

Université du Québec
Institut National de la Recherche Scientifique
Eau, Terre et Environnement

Effets des différentes stratégies et prétraitements des biosolides municipaux sur la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

Par

MARIE-EVE LEBLANC

Baccalauréat en Microbiologie

Mémoire présenté pour l'obtention du grade de maîtrise en Sciences de l'eau

Jury d'évaluation

Examineur externe

Mourad Kharoune

École Polytechnique de Montréal

Examineur interne

Jean Louis Sasseville

INRS-ETE

Codirecteur de recherche

José R. Valéro

Centre de foresterie des Laurentides

Directeur de recherche

Rajeshwar D. Tyagi

INRS-ETE

À mes parents, Denise et Marc-André,

À Ben...

REMERCIEMENTS

Je remercie mon directeur de recherche, le Dr R. D. Tyagi et mon codirecteur, le Dr José R. Valéro pour la confiance et l'attention qu'ils m'ont accordées pendant la réalisation de ces travaux de recherche.

Je tiens à remercier mes collègues, mais encore plus amis, Eve, Islem, Mathieu et Simon, pour avoir agrémente les deux années que j'ai passées au laboratoire. Merci à Simon pour le précieux temps qu'il accorde à chacun des membres de l'équipe.

Finalement, je tiens à remercier toutes les personnes ayant d'une façon ou d'une autre, participé à la réalisation de ce projet.

RÉSUMÉ

Il a été démontré que les boues d'épuration peuvent être utilisés comme milieu de culture alternatif à la production de biopesticide à partir de *Bacillus thuringiensis*. En effet, les biosolides sont riches en sources de carbone, d'azote, de phosphore ainsi que de nombreux autres éléments essentiels à la croissance, la sporulation et la synthèse des cristaux protéiques de la bactérie. Cependant, les diverses stratégies et prétraitements développés dans notre équipe de recherche n'ont pas encore atteint les résultats escomptés en terme d'entomotoxicité. Afin d'optimiser le potentiel entomotoxique de *Bacillus thuringiensis* cultivé dans les biosolides, de nouvelles stratégies ont été menées. On note entre autres, l'hydrolyse des boues, l'ajout de divers éléments nutritifs (glucose, sulfate d'ammonium, extraits de levures), le mélange de boues (déshydratées et de levures) et l'ajout de surfactant (Tween 80).

Une amélioration significative comprise entre 25-65% du potentiel entomotoxique a été enregistrée pour les ajouts de 0.4% (v/v) de Tween 80 dans les boues hydrolysées et de 0.1% (v/v) de Tween 80 dans les boues non hydrolysées, où ont été atteints des niveaux d'entomotoxicité de l'ordre de 18 milliards d'unités internationales par litre (MUI/L). De même, les ajouts aux biosolides de boues de levures, d'extraits de levures et de glucose, ont permis des augmentations considérables. Il a été démontré que les boues secondaires et les boues déshydratées de Jonquière ayant subi un traitement d'hydrolyse ne permettaient pas d'augmenter le potentiel entomotoxique de *Bt*, de même que son taux de croissance et de sporulation. L'ajout de sulfate d'ammonium dans les boues de la CUQ en début d'expérimentation et suivant la phase exponentielle de croissance a démontré, en accord avec les données de la littérature, qu'il n'est pas à lui seul en mesure de supporter la croissance de la bactérie, et que l'induction de la phase de sporulation de même que la formation des protéines toxiques s'effectuaient lorsqu'il y avait épuisement de l'azote disponible dans le milieu de culture. Parallèlement, l'ajout simultané de sulfate d'ammonium et de glucose dans les boues a mené à de pareilles observations. Enfin, il serait intéressant de combiner les meilleures stratégies afin d'améliorer l'efficacité du procédé.

TABLES DES MATIÈRES

CHAPITRE I : Synthèse.....	1
1.1 Problématique.....	2
1.2 Production de <i>Bacillus thuringiensis</i> dans les biosolides.....	3
1.2.1 Historique de <i>Bt</i>	3
1.2.2 <i>Bacillus thuringiensis</i>	4
1.2.3 Milieux de culture.....	6
1.2.4 Boues d'épuration.....	7
1.2.5 Traitement des boues.....	8
1.3 Influence des sources additionnelles de nutriments, de polymères et de Tween 80 dans la production de <i>Bacillus thuringiensis</i>	10
1.3.1 Sources de carbone.....	10
1.3.2 Sources d'azote.....	11
1.3.3 Extraits et boues de levures.....	11
1.3.4 Ratio C:N.....	14
1.3.5 Polymères.....	14
1.3.6 Tween 80.....	15
1.4 Les stratégies précédemment développées.....	15
1.4.1 Ajout de glucose, d'extraits de levures et de Tween 80.....	15
1.4.2 Surnageant des boues et boues de Jonquièrè.....	16
1.4.3 Chocs de pH.....	17
1.4.4 Concentration en solides et hydrolyse des boues.....	17
CHAPITRE II : Hypothèses de recherche, objectifs spécifiques et méthodologie.....	18
2.1 Hypothèses et objectifs.....	19
2.2 But de la recherche.....	21

2.3 Matériel et méthodologie	21
2.3.1 Culture de <i>Btk</i>	21
2.3.1.1 Préparation du milieu de culture	21
2.3.1.1.1 Échantillonnage des boues	21
2.3.1.1.2 Caractérisation des boues échantillonnées	22
2.3.1.1.3 Prétraitement des boues	24
2.3.1.1.4 Surnageant des boues	25
2.3.1.2 Préparation de l'inoculum	25
2.3.1.2.1 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>	25
2.3.1.2.2 Culture de départ	25
2.3.1.2.3 Préculture	26
2.3.1.2.4 Inoculation des fioles	26
2.3.1.3 Échantillonnages	26
2.3.1.4 Essais de caractérisation des produits de fermentation	26
2.3.1.4.1 Dénombrement des cellules et des spores	26
2.3.1.4.2 Bio-essais	28
2.3.2 Méthodologie	30
2.3.2.1 Effet des divers ajouts sur la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité de <i>Br30</i>	
2.3.2.2 Divers traitement sur les boues	31
CHAPITRE III : Résultats et Discussions	44
3.1. Analyse physico-chimiques des boues	34
3.2. Influences des sources additionnelles de nutriments dans la production de <i>Bacillus thuringiensis</i>	37
3.2.1. Glucose	37
3.2.1.1. Résultats	37
3.2.1.2. Discussion	40

3.2.2. Boues de levures	41
3.2.2.1. Résultats.....	41
3.2.2.2. Discussion.....	45
3.2.3. Sulfate d'ammonium.....	47
3.2.3.1. Résultats.....	47
3.2.3.2. Discussion.....	49
3.2.4. Glucose et sulfate d'ammonium	50
3.2.4.1. Résultats.....	50
3.2.4.2. Discussion.....	53
3.2.5. Boues hydrolysées mélangées à des boues non hydrolysées	54
3.2.5.1. Résultats.....	54
3.2.5.2. Discussion.....	56
3.2.6. Centrifugation vs polymères	56
3.2.6.1. Résultats.....	56
3.2.6.2. Discussion.....	58
3.2.7. Surnageant des boues.....	59
3.2.7.1. Résultats.....	59
3.2.7.2. Discussion.....	61
3.2.8. TWEEN 80	61
3.2.8.1. Résultats.....	61
3.1.8.2. Discussion.....	64
3.2.9. Boues de Jonquière	65
3.2.9.1. Résultats.....	65
3.2.9.2. Discussion.....	66
3.2.10. Boues de Jonquière déshydratées	68

3.2.10.1. Résultats.....	68
3.2.10.2. Discussion.....	69
3.2.11. Boues secondaires de Jonquière mélangées à des boues déshydratées	70
3.2.11.1. Résultats.....	70
3.2.11.2. Discussion.....	71
CHAPITRE IV : Conclusions et recommandations.....	76
BIBLIOGRAPHIE	81
ANNEXES.....	89

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Analyses chimiques des extraits de levures commerciales provenant de « baker's yeast » (Difco, USA)	12
Tableau 1.2 Analyses chimiques des boues de levures provenant de la brasserie Unibroue de Chambly.	13
Tableau 2.1 Boues des usines d'épuration employées comme milieu de culture de <i>Bacillus thuringiensis</i> .	22
Tableau 2.2 Composition de la diète par 100 ml de milieu (McMorran, 1965)	29
Tableau 3.1 Moyenne des résultats des caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ	34
Tableau 3.2 Caractéristiques physico-chimiques des boues de levures de Chambly	35
Tableau 3.3 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires et déshydratées de Jonquière	36
Tableau 3.4 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (10 mai 2002).	39
Tableau 3.5 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de glucose.	40
Tableau 3.6 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (3 juin 2002).	44
Tableau 3.7 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de boues et d'extraits de levures.	45
Tableau 3.8 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (29 août 2002).	49
Tableau 3.9 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de sulfate d'ammonium.	49
Tableau 3.10 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (9 septembre 2002).	52
Tableau 3.11 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de sulfate d'ammonium et de glucose.	53

Tableau 3.12	Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (23 septembre 2002).	55
Tableau 3.13	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour le mélange de boues hydrolysées et de boues non hydrolysées.	56
Tableau 3.14	Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (22 juillet 2002).	57
Tableau 3.15	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les boues épaissies par centrifugation et par l'ajout de polymères.	58
Tableau 3.16	Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (4 juillet 2002).	60
Tableau 3.17	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour le surnageant des boues hydrolysées.	61
Tableau 3.18	Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (30 septembre 2002).	63
Tableau 3.19	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de Tween 80.	64
Tableau 3.20	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité obtenues dans des boues de Jonquière.	66
Tableau 3.21	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité obtenues dans des boues déshydratées de Jonquière.	69
Tableau 3.22	Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité obtenus dans le mélange de boues secondaires de Jonquière et de boues déshydratées de Jonquière.	71
Tableau 3.23	Résultats de potentiel entomotoxique à 36 et 48 heures pour l'ensemble des expériences par ordre de décroissance.	73

LISTE DES FIGURES

- Figure 3.2.1. Maximums de cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose. _____ 38
- Figure 3.2.2. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose. _____ 39
- Figure 3.2.3. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures. _____ 42
- Figure 3.2.4. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures. _____ 43
- Figure 3.2.5. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) et hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations d'extraits de levures. _____ 44
- Figure 3.2.6. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations en sulfate d'ammonium. _____ 47
- Figure 3.2.7. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium. _____ 48
- Figure 3.2.8. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de glucose et de sulfate d'ammonium. _____ 51
- Figure 3.2.9. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de glucose et de sulfate d'ammonium. _____ 52
- Figure 3.2.10. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différents pourcentages de boues secondaires de la CUQ hydrolysées (35 g/L). _____ 55
- Figure 3.2.11. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de la CUQ épaissie à 30 g/L par la méthode de la centrifugation et par l'ajout de polymères. _____ 57

Figure 3.2.12. Structure chimique du Percol	59
Figure 3.2.13. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans le surnageant des boues secondaires hydrolysées de la CUQ (35 g/L).	60
Figure 3.2.14. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de la CUQ (25 g/L) selon l'ajout de différents pourcentages de TWEEN 80.	62
Figure 3.2.15. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées de la CUQ (35 g/L) selon l'ajout de différents pourcentages de TWEEN 80.	63
Figure 3.2.16. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de Jonquière selon différentes concentrations en solides.	66
Figure 3.2.17. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans des boues déshydratées de Jonquière hydrolysées selon différentes concentrations en solides.	68
Figure 3.2.18. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomototoxicité (ET) obtenus dans un mélange hydrolysés de boues déshydratées et de boues secondaires de Jonquière hydrolysées selon différentes concentrations en solides.	71

CHAPITRE I : Synthèse

CHAPITRE 1 - SYNTHÈSE

1.1 Problématique

Actuellement, le taux de natalité étant à la hausse et le taux de mortalité en baisse, il en résulte un accroissement fulgurant de la population mondiale. Aussi, si la science répond aux besoins des individus en faisant évoluer la médecine afin de prolonger l'espérance de vie, d'autres individus doivent trouver des solutions afin de contrer la famine et répondre aux très grands besoins de cette masse grandissante, sur une Terre, disons-le, de superficie limitée. Les ressources n'étant pas illimitées, et étant très mal réparties, il est très important qu'elles ne soient gaspillées. Il existe également une dimension économique très importante au problème de dilapidation si haut mentionné.

Il est vrai que des pertes de ressources naturelles sont fréquentes, et très souvent, pourraient être évitées. En effet, c'est le cas lorsque l'on fait allusion aux incendies de forêt. Ces derniers, très dévastateurs physiquement et économiquement, sont la hantise des forestiers du Québec, comme partout dans le monde. À cela s'ajoutent les ravages causés par de nombreux insectes dévastateurs de très grandes étendues de forêt. Face à ces catastrophes, l'homme tente de combattre tant bien que mal. Ainsi, dans le cas des feux de forêts, il luttera avec l'eau et lors d'infestation par des insectes ravageurs, il le fera avec les pesticides.

Il est bien connu que les pesticides chimiques contaminent les sols, les eaux de surface, la nappe phréatique, en plus des produits de consommation, et qu'il existe des risques de persistance, engendrant des dangers pour la santé des organismes vivants (Copping et al., 2000). De plus, il a été démontré que les pesticides chimiques pouvaient développer un phénomène de résistance chez les insectes cibles (Tirado-Montiel et al., 2001).

De leur côté, les biopesticides sont produits à base de protéines synthétisées par des micro-organismes déjà présents dans la nature, et malgré une certaine persistance dans les sols, ils ne représentent pas vraiment de risques toxiques pour la chaîne alimentaire. Comme pour les pesticides chimiques, il a été démontré que certains insectes développaient une résistance aux

biopesticides. Par contre, à ce jour, on ne retrouve que *Plutella xylostella* ayant développé un haut niveau de résistance à la toxine protéique (Cry 1Ab) de *Bacillus thuringiensis* (Prieto-Samsónov et al., 1997).

Parce qu'ils sont très efficaces, non persistants, sélectifs et possédant un faible potentiel de résistance chez les insectes, les biopesticides seraient en mesure de substituer progressivement aux pesticides chimiques. Les coûts de production des biopesticides étant plus élevés que ceux des pesticides conventionnels, ils ne représentent pas présentement la meilleure alternative pour les principaux acheteurs. Il est à noter que le coût du milieu de culture est l'un des principaux facteurs limitant la production du biopesticide *Bacillus thuringiensis* (Lachhab et al., 2001). Lisansky et al. (1993) estiment que 35 à 59 % des coûts de production sont liés au substrat de fermentation. Pour cette raison, il serait très intéressant de trouver un milieu de culture alternatif à la production de *Bt*. À cet égard, il a été prouvé par l'équipe d'assainissement de l'INRS-ETE, que les boues d'épuration d'origine municipale pouvaient servir de milieu alternatif, et pallier par le fait même, à l'énorme problème de la disposition des boues (Ben Rebah et al., 2002). Bien que les boues d'épuration supportent la croissance de *Bacillus thuringiensis*, il est important d'optimiser les rendements de la production des protéines toxiques. Pour ce faire, plusieurs expérimentations portant sur les prétraitements des boues et sur l'ajout de diverses substances devront être effectuées.

1.2 Production de *Bacillus thuringiensis* dans les biosolides

1.2.1 Historique de *Bt*

Bacillus thuringiensis, mieux connu de par ses initiales (B.t), est une bactérie omniprésente sur la planète et découverte au Japon au début du siècle (appelée à l'époque *Bacillus sotto*) (Dulmage et Aizawa, 1982). En 1911, le biologiste allemand Berliner identifiait sur des chrysalides infectées de la teigne de la farine, un *Bacillus*, qui a été baptisé du nom de la province de Thuringe, d'où il avait été isolé (Baum et al., 1995).

Les premières formulations commerciales ont été fabriquées en France, en 1938 et servaient d'insecticide agricole (le Sporeine (Rajnachapel-Messaï, 1993)). Cependant, le produit n'étant pas au point, il était très peu utilisé. Dans les années 50, il a été prouvé que *Bacillus thuringiensis*

tuait les larves de lépidoptères grâce à une inclusion protéique aux propriétés insecticides appelée cristal. Néanmoins, il a fallu attendre le début des années 70, afin que des recherches améliorent la formulation du produit existant et mènent à la découverte de nouvelles souches; le *Bt* est alors devenu beaucoup plus populaire (Otvos et Vanderveen, 1993).

Aujourd'hui, environ 50 000 souches de *Bt* ont été isolées de par le monde. On retrouve entre autres *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* de sérotype HD-1 (toxique pour de nombreux insectes ravageurs agricoles), qui a été découverte dans les années 60 (Dulmage, 1970a).

Dans les années 70, c'est au tour de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* d'être isolée et utilisée pour ces effets toxiques contre les moustiques et les mouches noires. Finalement, au milieu des années 1980, il y a eu la découverte de *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*, active contre plusieurs Coléoptères (Herrnstadt et al., 1986). Il est à noter que toutes ces souches de bactéries sont spécifiques aux insectes cibles et présentent une innocuité totale à l'égard de la faune non ciblée, la flore et les humains.

1.2.2 *Bacillus thuringiensis*

Bacillus thuringiensis est une bactérie naturellement présente dans le sol. Elle est anaérobie facultative, en forme de bâtonnet, Gram-positif, flagellée et caractérisée par la production d'un cristal protéique durant la sporulation constitué de protéines présentant une activité insecticide spécifique (Tirado-Montiel et al., 2001). On retrouve, plus de 40 sous-espèces connues et classifiées d'après l'antigène H flagellaire, la forme du cristal protéique, la grosseur et la présence d'antigènes. Certains chercheurs ont procédé à la classification selon les gènes codés pour la formation des cristaux, différenciant ainsi entre des sous-espèces liées (Höfte et al., 1989).

Bacillus thuringiensis est chimiohétérotrophe, c'est-à-dire qu'elle utilise des produits organiques comme sources métaboliques d'énergie, d'hydrogène, d'électrons et de carbone (Prescott et al., 1995). De façon générale, son métabolisme repose sur la glycolyse (ou voie D'embden-Meyerhof, qui permet la dégradation du glucose en présence d'oxygène), du cycle des acides tricarboxyliques (TCA) (production d'énergie; d'ATP) (Prescott et al., 1995) et du cycle glyoxylique.

Comme pour les autres micro-organismes, la croissance de *Bacillus thuringiensis* en milieu fermé présente quatre phases : latence, exponentielle, stationnaire et mortalité. Au cours de la phase de latence, *Bt* synthétise différents constituants cellulaires essentiels, tels des enzymes. Une période de latence ou d'adaptation plus longue est nécessaire, lorsque le milieu dans lequel est cultivée la bactérie est différent de celui d'où elle se développait précédemment et lorsque l'âge de la culture est plus avancé (Prescott et al., 1995).

Durant la phase exponentielle, les micro-organismes se divisent par scissiparité à la vitesse maximale possible, compte tenu de leur potentiel énergétique, de la nature du milieu et des conditions de culture. La vitesse de croissance est généralement constante et la population est presque uniforme en regard des propriétés chimiques et physiologiques (Prescott et al., 1995).

Lors de la phase stationnaire (équilibre entre la division et la mort cellulaire), la croissance de la population est terminée. Cela survient le plus souvent en raison d'une limitation en éléments nutritifs, un épuisement de l'oxygène disponible et l'accumulation de déchets métaboliques toxiques. De plus, c'est à ce moment que la bactérie s'engage dans un processus qui aboutit à la sporulation (Luthy et al., 1982). Les spores ou encore endospores sont une forme de résistance qui assure la conservation et la dispersion de *Bt*, avant la germination qui donnera un nouveau cycle de croissance végétative. Pour ce qui est de la phase de mortalité, elle se caractérise par une diminution progressive, mais lente, du nombre de cellules viables (Prescott et al., 1995).

Les sources de carbone sont fortement utilisées durant la phase de croissance. Cela entraîne l'accumulation de divers métabolites tels le pyruvate, le lactate, l'acétate, le poly- β -hydroxybutyrate (PHB) et le 2,3-butanodiol (Anderson, 1990). Lors de la phase de sporulation, certains de ces composés seront utilisés (poly- β -hydroxybutyrate et quelques acides aminés) en tant que source d'énergie pour la formation des spores, des cristaux protéiques et la mise en marche de la lyse cellulaire. La métabolisation du poly- β -hydroxybutyrate par le cycle des acides tricarboxyliques et le cycle glyoxylique génère de l'acétyl-CoA (Rowe, 1990). Les acides acétiques et pyruviques produits lors de la phase de croissance sont oxydés au début de la sporulation (Hanson et al., 1964).

Pour ce qui est des mécanismes permettant l'assimilation de l'azote par *Bacillus thuringiensis*, ils sont beaucoup moins connus. Cependant, nous savons que l'azote peut être assimilé sous forme

d'ammoniaque par les cycles de l'alanine déshydrogénase et du glutamate déshydrogénase, ou sous la forme d'acides aminés.

Finalement, si le carbone est majoritairement utilisé durant la phase de croissance (Tirado-Montiel, 2001), c'est la réduction des sources d'azote dans le milieu qui est responsable de l'initiation de la sporulation de *Bacillus thuringiensis* (Yang et Wang 1998).

Le corps parasporal de *Bt* contient des toxines protéiques qui peuvent tuer plus de cent espèces de lépidoptères, en se dissolvant dans le tube digestif alcalin des chenilles et en détruisant l'épithélium intestinal. Les protéines toxiques solubilisées sont clivées par des protéases du tube digestif en plus petits polypeptides toxiques, qui attaquent les cellules épithéliales (Kwa et al., 1998). Finalement, l'insecte meurt des suites d'une privation de nourriture et d'une septicémie (Rajamohan et al., 1996; Strizhov et al., 1996).

Précisons que la dissolution du cristal doit se faire en milieu basique, soit à des pH de 9 à 11, caractéristique du milieu intestinal de l'insecte. À noter également que les diverses toxines sont relativement sélectives et que leur spectre d'action est restreint à certains groupes d'insectes (Copping et al., 2000).

1.2.3 Milieux de culture

Pour un bon rendement de croissance, de sporulation et afin de faciliter la formation des cristaux de *Bacillus thuringiensis*, il est essentiel qu'un minimum d'éléments nutritifs soit présents dans le milieu de culture et que leurs concentrations et diversité soient appropriées aux besoins spécifiques de la bactérie. De façon générale, le milieu de culture doit contenir au moins une source de carbone, une source d'azote, de même que du phosphore (Sachdeva et al., 1999) et des éléments minéraux tels le Ca^{2+} , le Mn^{2+} et le Mg^{2+} (Yang et Wang 2000). De plus, il est à noter qu'il est très important de retrouver ces éléments en quantités adéquates, afin de ne pas inhiber ou interférer certains processus de la croissance de la bactérie.

Divers milieux synthétiques ont été expérimentés afin de faire croître *Btk*. On retrouve entre autres le milieu soja, les mélasses, les farines de poissons, le gruau, les pelures de citron, les farines de maïs, les graines de datte, et de nombreux autres sous-produits agro-industriels, tels le lait de noix de coco, la farine des grains de coton, les résidus de poulet, les arachides, les extraits

de levures, le petit lait et la liqueur de trempage de maïs (Lee et Seleena, 1991; Mummigatti et Raghunathan, 1990 ; Abdel-Hameed et al., 1990; Adams et al., 1999). Les meilleurs résultats quant à la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité sont obtenus dans le milieu soja. Aussi, vu les coûts de production élevés, le biopesticide ne peut concurrencer le marché des pesticides chimiques qui sont beaucoup plus abordables (Lachhab et al., 2001). Ainsi, si nous voulons arriver à surpasser la vente des pesticides, il nous faudra trouver un milieu de culture engendrant beaucoup moins de dépenses. C'est à ce moment qu'interviennent les boues d'épuration, très riches en nutriments, peu coûteuses et disponibles dans le monde entier.

1.2.4 Boues d'épuration

De façon générale, les eaux se retrouvant dans les égouts des municipalités canadiennes, ne contiennent que 0.1% de polluants sous la forme de matières solides ou tout simplement sous la forme de substances chimiques. De ces polluants, 70% sont de la matière organique et 30% sont des substances inorganiques. S'ajoute à ces substances polluantes, une quantité variable de substances chimiques de synthèse d'origine industrielle et commerciale, en plus de certains micro-organismes (coliformes, virus, parasites, protozoaires et helminthes) (Guide canadien d'évaluation des incidences sur la santé, 1999).

Ce sont les traitements primaires (bassins de décantation) et secondaires (traitement biologique) qui sont principalement à l'origine des boues d'épuration. À ces traitements s'en suivent des opérations visant la réduction de la teneur en eau et la stabilisation des boues. On effectue un épaissement et une déshydratation des boues afin de réduire la teneur en eau. La stabilisation peut se faire par une digestion microbologique en aérobie ou en anaérobie ou par voie chimique.

On retrouve dans les boues d'épuration, des composés organiques tels l'azote, le phosphore, le potassium, le calcium, le magnésium et l'ensemble des métaux lourds. La plupart de ces éléments sont essentiels à la croissance des micro-organismes, mais certains, comme les métaux lourds, possèdent un potentiel toxique. Cependant, il faut noter que les concentrations en métaux dans les boues du Québec sont généralement inférieures à celles considérées comme dangereuses par l'EPA. Pour leurs parts, les composées organiques considérées non toxiques sont les matières d'origine animale et végétale (protéines, acides aminés, sucres, graisses). Par contre, ce qui est jugé non toxique peut devenir source de pollution, puisque ces derniers favorisent

l'accroissement de la demande biologique en oxygène (DBO₅), réduisant considérablement la quantité d'oxygène disponible pour les organismes aquatiques (Guide canadien d'évaluation des incidences sur la santé, 1999).

Pour ce qui est des composés organiques toxiques, ils sont le plus souvent représentés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), des pesticides, des composés aliphatiques halogénés, des BPC, des chlorobenzènes, des composés organiques volatils (COV), des phénols, des dioxines et des furannes. Bien qu'il existe un potentiel cancérigène connu à certains de ces composés, leurs concentrations sont généralement faibles, et par les suites d'un épandage, on ne considère pas qu'il existe un risque véritable pour la santé (Guide canadien d'évaluation des incidences sur la santé, 1999).

Dans le cas des organismes pathogènes, il est mentionné que seul un traitement thermique (70°C et plus) est en mesure d'éliminer les kystes et les œufs des parasites, les virus, les bactéries et les champignons qui se retrouvent dans les boues (Guide canadien d'évaluation des incidences sur la santé, 1999).

Comme nous venons de le voir, il existe une grande gamme d'éléments nutritifs essentiels dans les boues d'épuration, ce qui offre de bonnes perspectives de valorisation agricoles. De plus, puisque ces dernières contiennent les éléments nutritifs essentiels à la croissance de *Bacillus thuringiensis* (C, N, P, et plusieurs autres éléments nutritifs) (Sachdeva et al., 2000), elles peuvent être utilisées comme un produit à haute valeur ajoutée, pour la croissance de *Btk* (Barnabé et al., 2000).

1.2.5 Traitement des boues

Bien qu'il a été prouvé que les boues d'épuration pouvaient supporter la croissance de *Bacillus thuringiensis* (Tirado-Montiel, 2001), il est toutefois possible d'augmenter le potentiel de croissance, de sporulation et d'entomotoxicité de la bactérie dans des boues préalablement traitées. Aussi, il a été démontré par Novelli et al. (1995), que l'hydrolyse des boues par un traitement oxydatif permettait la réduction considérable du volume des solides final (déshydratation des boues (Mustranta et al., 1993), et entraînerait une baisse des coûts d'entreposage (Novelli et al., 1995).

Il existe plusieurs types d'hydrolyse : chimique, physique et biologique. Dans le cas d'une hydrolyse par des moyens chimiques, il y aura transformation de 90% de la matière solide en suspension et des composés complexes, en des particules plus simples (Karlsson et al., 1993). Aussi, l'hydrolyse chimique comprend les traitements acides, alcalins, thermiques et oxydants, de même que des combinaisons de ces derniers (Barnabé, 2000). Le traitement alcalin est considéré comme étant le plus productif, puisqu'il possède la plus grande capacité de solubilisation pour l'ensemble des traitements chimiques, physiques et biologiques.

L'hydrolyse alcaline se résume en trois étapes très importantes qui consistent en un premier lieu à briser l'enveloppe cellulaire. Par la suite, il y aura une diminution de la demande chimique en oxygène (DCO), et finalement, il y aura hydrolyse des chaînes polymériques (Li et al., 1992). Il est important de mentionner que lorsque le traitement alcalin est effectué à des températures élevées, il y a absence de réactions défavorables pouvant être à l'origine de l'arrêt de la dégradation des chaînes polymériques pendant l'hydrolyse (Novelli et al., 1995). Cette découverte nous permet de supposer que la combinaison de l'hydrolyse alcaline à une hydrolyse thermique pourrait être très performante.

En ce qui a trait aux effets de l'hydrolyse des boues, ils se caractérisent par la formation de substances organiques facilement assimilables par les organismes; des carbohydrates, des lipides et des protéines solubles, de même que des acides gras à courte chaîne (primary lower fatty acids) (Li et al., 1992). Ces acides gras sont une excellente source de carbone pour l'enlèvement biologique de l'azote et du phosphore (Andreasen et al., 1997). Aussi, puisqu'il y a accroissement du carbone, de l'azote et de tout autre nutriments essentiel à *Bt* disponible dans les boues, on peut en déduire qu'il pourrait en résulter une augmentation du taux spécifique de croissance, du nombre de cellules et de spores de même que du potentiel entomotoxique. De plus, il est à noter que la proportion des éléments disponibles dans les boues suite à une hydrolyse sera fonction du type de boues. Ceci entraîne que la quantité de cellules et de spores, ainsi que le potentiel d'entomotoxicité, seraient dépendants du type de boues utilisées (Tirado-Montiel et al., 2001). Finalement, l'hydrolyse des boues augmente la disponibilité des nutriments assimilables par les organismes (Sachdeva et al., 2000) et favorise ainsi la croissance de ces derniers.

1.3 Influence des sources additionnelles de nutriments, de polymères et de Tween 80 dans la production de *Bacillus thuringiensis*

1.3.1 Sources de carbone

Tout d'abord, il a été démontré que *Bt* var. *kurstaki* ne peut utiliser des sucres complexes, tels le sucrose ou le lactose (Kang et al., 1992). Cependant, le glucose est facilement assimilable par la bactérie et supporte bien sa croissance cellulaire (Yang et Wang 2000). D'autres sources de carbone sont couramment utilisées dans l'industrie tels : le glycérol, les farines, le dextrose, l'amidon et les mélasses. Cependant, les meilleurs résultats sont obtenus lors de l'ajout de sources de carbone sous leur forme la plus simple dans les boues (Tirado-Montiel, 1997).

L'assimilation du glucose s'effectue par la voie d'Embden-Meyerhof-Parnas (Luthy et al., 1982; Bulla et al., 1980). De plus, c'est au niveau du cycle des acides tricarboxylyques qu'il y a assimilation de l'acétate, et réserve de ce dernier en tant que source d'énergie qui sera essentielle lors de la croissance cellulaire et de la phase de sporulation. L'acétate ainsi stocké, est utilisé par la bactérie lorsque la disponibilité du glucose dans le milieu devient faible (Yang et Wang 1998).

L'existence d'un niveau critique d'acétate pouvant inhiber la croissance de *Bt* a été démontrée par Liu et al. (1994). En effet, des concentrations élevées de glucose dans le milieu peuvent causer une diminution et l'arrêt de la croissance. Pour cette raison, il est important de connaître le niveau optimum de glucose, qui diffère selon la souche (Yang et Wang 1998).

La diminution ou l'arrêt de la croissance de *Bt* se produit en raison d'une production d'acides dans le milieu, qui est fonction de la concentration de glucose initialement présente. Il est reconnu cependant, qu'une bonne aération et le contrôle du pH dans le milieu, peuvent renverser l'effet d'inhibition (Foda et al., 1985). Yudina et al. (1993) démontrèrent qu'un changement de source de carbone durant la culture de *Bacillus thuringiensis* causait des variations importantes dans l'activité biologique et la morphologie des cristaux.

On retrouve normalement deux types de δ -endotoxines dans les cristaux. Ces dernières sont responsables de la toxicité et de la spécificité d'action des protéines toxiques (Yudina et al., 1993). La concentration de cristaux diffère selon le milieu de culture utilisé, les conditions de culture, de même que selon plusieurs autres facteurs affectant l'expression des gènes des toxines (Widner et al., 1989). On remarque aussi que les conditions de culture ont un grand effet sur les propriétés des δ -endotoxines et peuvent ainsi mener à une altération de la toxicité des cristaux (Alves et al., 1997). D'autre part, la concentration de carbone durant la croissance de *Bt*, ne résulte pas en un changement dans la morphologie des cristaux et de leurs activités biologiques. Leur quantité est cependant fonction de la biomasse présente dans le milieu de culture (Yudina et al., 1993).

1.3.2 Sources d'azote

L'assimilation de l'azote par *Bacillus thuringiensis* est moins bien comprise que celle du glucose. Cependant, nous savons que l'azote peut être assimilé sous la forme d'ions ammonium et d'acides aminés (Tirado-Montiel et al., 2001). Des recherches effectuées par Arcas (1984) et Bulla (1980) ont démontré que des composés inorganiques d'azote, tel le sulfate d'ammonium ((NH₄)₂SO₄), ne sont pas suffisants pour la croissance de la bactérie, alors que des sources organiques d'azote, comme les extraits de levures, en ont la capacité (Yang, et Wang 2000).

Il a été établi que l'ajout, dès le début de la phase de sporulation d'une source d'azote d'origine organique ou inorganique, réduit la sporulation et la production des toxines (Yang et Wang 2000). Ces derniers ont montré qu'une réduction de l'azote dans le milieu est nécessaire au déclenchement de la sporulation et de la synthèse du cristal.

1.3.3 Extraits et boues de levures

Les extraits de levures sont souvent employés comme source d'azote et de vitamines pour favoriser la croissance et la sporulation de *Bacillus thuringiensis* (Saksinchai et al., 2001). Par contre, ces derniers sont coûteux et contribuent à accroître les coûts de production. Il serait important de trouver une alternative équivalente, mais à moindre coût, à l'utilisation des extraits de levures.

Tableau 1.1 Analyses chimiques des extraits de levures commerciales provenant de « baker's yeast » (Difco, USA)

<i>Composés</i>	<i>« % w/w dry solids ± S.D (n-1) »</i>
Azote total (TN)	10.7 ± 0.1
Ions ammonium	0.9 ± 0.1
Azote total corrigé	9.8 ± 0.2
« Amino nitrogen » (AN)	5.4 ± 0.2
Hydrate de carbone total (glucose)	15.2 ± 0.2
ARN	
Par orcinol	15.9 ± 0.3
Par UV 260 nm	15.6 ± 0.4
« Ether extractable fat »	< 1
Cendres	11.6 ± 0.6
« Bitterness (BU/g) »	3 ± 1
AN / TN	0.52
AN / TN corrigé	0.55
Estimation ratio C : N	3.6

* Données recueillies d'après les résultats de Saksinchai et al., 2001.

Les boues de levures provenant de la fermentation de la bière sont principalement utilisées comme nourriture pour les animaux, notamment les porcs (Dziezak, 1987). Cette source d'azote et de vitamines est aussi utilisée comme éléments nutritifs pour la culture de *Bt*. Saksinchai et al. (2001) ont montré que l'ajout de boues de levures dans un milieu de culture standard avait les mêmes effets, quant à la croissance et la sporulation, que l'utilisation d'extraits de levures commerciaux. Pour cette raison, et puisque les boues de levures sont beaucoup moins dispendieuses que les extraits de levures, elles représentent une alternative intéressante aux sources d'azote communément employées dans l'industrie.

Tableau 1.2 Analyses chimiques des boues de levures provenant de la brasserie Unibroue de Chambly.

Paramètres	Résidus de levure Unibroue
ST (g/l)*	172,20
STV (g/l)*	129,00
MES (g/l)*	118,60
MVES (g/l)*	87,60
Ct (mg/kg)*	457 500,00
Nt (mg/kg)*	82 200,00
Rapport Ct/Nt (mg/kg)*	5,57
N-organique (mgN/kg)*	77 422,42
N-NH ₄ ⁺ (mgN/kg)*	4 777,58
DCO (mg O ₂ consommé/L)	22 420,00
COT (mg/L)	86 400,00
COD (mg/L)	60 280,00
Pt (mg/kg)*	6 450,70
P-PO ₄ ³⁻ (mgP/kg)*	1 151,57
Ca (mg/kg)*	2 526,10
Mg (mg/kg)*	2 010,90
Rapport Ca/Mg (mg/kg)*	1,26
Mn (mg/kg)*	60,40
K (mg/kg)*	6 824,80
Fe (mg/kg)*	4 301,20
Na (mg/kg)*	2 144,80
Cu (mg/kg)*	29,24
Zn (mg/kg)*	< 0,002
Pb (mg/kg)*	2,16
Mo (mg/kg)*	5,87
Al (mg/kg)*	250,70
Cr (mg/kg)*	7,59
Cd (mg/kg)*	0,27
S (mg/kg)*	2 339,80
Ni (mg/kg)*	4,73

*Données recueillies de Guillaume Dufresne (2003)

1.3.4 Ratio C:N

L'effet du ratio du carbone et de l'azote est devenu très important lors de la découverte qu'un milieu relativement riche en protéines inhibait la sporulation. En effet, la formation des spores est régulée par un phénomène de répression catabolique par l'azote (Pearson et al., 1988). C'est-à-dire qu'il y a inhibition de la synthèse de plusieurs enzymes du catabolisme par un métabolite, dans ce cas, l'azote (Prescott et al., 1995).

De façon générale, les boues primaires sont riches en sources de carbone et les boues secondaires en azote (Vidyarthi et al., 2002). Ainsi, les boues mixtes, dépendamment des pourcentages de boues primaires et secondaires mélangées, auront des ratios C:N variables.

Il a été démontré par Vidyarthi et al. (2002), qu'un bas ratio C:N dans les boues secondaires, favorisait la sporulation de *Bt* et augmentait considérablement le potentiel entomotoxique des cristaux protéiques. Dans le cas des boues mixtes, un ratio C:N élevé aura une influence positive sur la quantité de cellules et de spores dans le milieu. Cependant, il est important de mentionner que ces auteurs n'ont pas observé de différences significatives en ce qui a trait à l'entomotoxicité du biopesticide. De plus, un ratio optimum C:N de 7.9-9.9 pour la production de *Bacillus thuringiensis* a été déterminé à partir de différentes combinaisons de boues (Vidyarthi et al., 2002).

1.3.5 Polymères

Le traitement des eaux usées et la déshydratation des boues impliquent une séparation dite solide liquide visant la réduction des volumes de boues. Cette séparation est très souvent réalisée par l'utilisation de polymères. Il existe plusieurs variétés de polymères sur le marché possédant des propriétés propres à chacun tels : le pourcentage cationique, la viscosité intrinsèque et la masse moléculaire (Fan et al., 2000).

La liaison des particules solides aux polymères s'effectue lorsque les segments des chaînes de polymère s'adsorbent sur les différentes particules retrouvées dans le milieu, réduisant ainsi les charges superficielles, ce qui entraîne la déstabilisation de la suspension et la floculation particulaire (Smellie et al., 1958).

Il est important de mentionner que le poids moléculaire de même que la conformation du polymère employé peuvent influencer le processus de floculation. Les meilleurs résultats de liaison sont obtenus avec des polymères de haut poids moléculaire. Cependant, pour une meilleure neutralisation des charges, un polymère de haute densité est préférable (Fan et al., 2000).

1.3.6 Tween 80

Le Tween 80 est un agent tensio-actif. Il favorise le transfert d'oxygène dans le milieu (Vidyarathi et al., 2001) et augmente la perméabilité membranaire (Zouari et al., 1999). Il permet de travailler avec des concentrations en solides plus élevées dans les boues, puisque le problème de transfert d'oxygène rencontré dans la fermentation de *Bacillus thuringiensis* dans des boues concentrées, est considérablement réduit.

À noter qu'il est préférable de travailler avec des boues contenant 25 g/L de solides lorsqu'elles ne subissent pas de prétraitement (Vidyarathi et al., 2001), et une concentration d'environ 35 g/L lorsque les boues sont hydrolysées (Barnabé, 2001), puisqu'il a été démontré que les meilleurs résultats de potentiels entomotoxiques de *Bt* sont obtenus dans de telles conditions (Lachhab et al., 2001). En dessus de ces concentrations, il y a entrave au transfert d'oxygène, ce qui est la principale cause d'une baisse des produits de la fermentation.

Aussi, de façon générale, les boues ont tendance à s'agglomérer en flocons. *Bt* s'y retrouve ainsi enfermé avec la majeure partie des nutriments présents dans les boues, ce qui peut être une autre cause au problème de transfert d'oxygène (Tirado-Montiel et al., 2001).

1.4 Les stratégies précédemment développées

1.4.1 Ajout de glucose, d'extraits de levures et de Tween 80

Tirado Montiel (1997) a étudié l'effet de l'ajout de glucose sur la croissance de *Bt* dans les boues de Black Lake en utilisant un inoculum de départ de 1000 spores. Elle a observé une amélioration de l'entomotoxicité. Il serait intéressant d'effectuer un parallèle entre ces résultats et ceux obtenus avec l'utilisation d'un inoculum de 2% (v/v) d'une culture de départ (milieu TSB) et la fermentation dans des boues de la CUQ. Aussi, puisque les expériences n'ont été

faites que dans des boues non hydrolysées et avec des concentrations de moins de 1 g/L, il était intéressant de refaire les expériences à 1, 2, 3, 4 et 5 g/L et dans des boues hydrolysées.

L'ajout d'extraits de levures à raison de 40 mg/L et de glucose dans des boues de Black Lake a été expérimenté par Tirado Montiel (1997) et Tirado Montiel et al. (2001). Cependant, puisque les résultats ont été obtenus à partir d'un inoculum de 1000 spores et qu'ils ont démontré une augmentation de la croissance et la sporulation de *Bt*, il était important de refaire des expériences avec des boues de la CUQ et un inoculum de 2% v/v, sans ajout de glucose et à des concentrations supérieures que celles utilisées lors de ces expérimentations. De plus, afin de trouver une alternative aux extraits de levures, des expériences ont été réalisées en substituant ces derniers par des boues de levures et du sulfate d'ammonium.

Les travaux de Vidyarthi et al. (2001) ont démontré que l'agent surfactant Tween 80 était supérieur quant au nombre de cellules et de spores de même qu'au niveau de l'entomotoxicité que le ATLOX 847, le ATLOX 848, le ATMOS 300, le ATPLUS 401, le ATPLUS 522, le SPAN 20, le SPAN85 et le Tween 85. Cependant, ce dernier n'a utilisé, lors de ces expériences, qu'une concentration de 0.2% v/v. Pour cette raison, il était important de déterminer la concentration optimum de Tween 80 à ajouter dans les boues de la CUQ hydrolysées ou non.

1.4.2 Surnageant des boues et boues de Jonquière

Des expériences quant à la culture de *Bacillus thuringiensis* dans le surnageant des boues hydrolysées ont été réalisées par Tirado Montiel (1997). Cependant, puisqu'elle a utilisé des boues de Valcartier, de Black Lake, de Sainte-Claire, de Beauceville et de Pâtes et papiers, il était important de finaliser ces expérimentations en cultivant *Bt* dans le surnageant de boues de la CUQ et en utilisant un inoculum de départ de 2% v/v.

L'utilisation des boues secondaires et déshydratées de Jonquière pour la croissance de *Bt* a déjà été réalisée par Vidyarthi et al. (2002). Cependant, le mélange de ces deux dernières pour la culture de la bactérie n'avait jamais été réalisé.

1.4.3 Chocs de pH

Des travaux quant à l'influence du pH du milieu sur la croissance de *Bacillus thuringiensis* ont été réalisés par Tirado Montiel (1997) et Tirado Montiel et al. (2001). Pour sa part, Barnabé (2000) a démontré les effets de chocs de pH sur la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité de la bactérie. Les chocs de pH influencent la disponibilité des éléments nécessaires à la formation de spores et des δ -endotoxines.

1.4.4 Concentration en solides et hydrolyse des boues

Il a été confirmé par Vidyarthi et al. (2001) et Lachhab et al. (2001) que la concentration optimale de solides dans les boues non hydrolysées était de 25 g/L. Au-dessus de cette concentration, et malgré l'augmentation de nutriments disponibles, il y a entrave au transfert d'oxygène. Barnabé (2000), pour sa part, a déterminé 35 g/L comme valeur optimum de solides dans des boues hydrolysées.

Le prétraitement des boues d'épuration a un impact direct sur la quantité de nutriments disponibles dans les boues. En effet, Tirado Montiel (1997) et Tirado Montiel et al. (2001) ont démontré que l'hydrolyse augmentait la concentration d'éléments nutritifs sous une forme plus simple, les rendant ainsi plus facilement assimilables, tout en améliorant la performance des boues à soutenir la croissance, la sporulation et la production de δ -endotoxines par *Bacillus thuringiensis*.

**CHAPITRE II : Hypothèses de recherche, objectifs spécifiques et
méthodologie**

CHAPITRE 2 - HYPOTHÈSES DE RECHERCHE, OBJECTIFS SPÉCIFIQUES ET MÉTHODOLOGIE

2.1 Hypothèses et objectifs

Il a été démontré que les boues d'épuration peuvent être utilisées comme milieu de culture alternatif à la culture de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, puisqu'elles contiennent normalement du carbone, de l'azote, du phosphore et de nombreux autres éléments essentiels à la croissance, la sporulation et la synthèse des cristaux protéiques (Lachhab et al., 2001). Cependant, en ce qui a trait aux résultats d'entomotoxicité, bien qu'acceptables, ils ne surpassent pas ceux obtenus dans le milieu synthétique (Sachdeva et al., 2000).

Afin d'améliorer la toxicité du biopesticide obtenu dans des boues d'épuration, il est capital de déterminer si le potentiel entomotoxique de *Btk* est fonction de la présence et de la quantité de certains éléments dans les boues. Nous avons, à cette fin, testé l'effet de l'ajout de boues de levures, de glucose, de sulfate d'ammonium, de polymères et de Tween 80. Des expériences ont été réalisées afin d'évaluer les effets d'un mélange d'un certain volume de boues hydrolysées à des boues non hydrolysées. La possibilité d'utiliser le surnageant des boues ainsi que l'utilisation de boues déshydratées, comme milieu de culture, ont aussi été évaluées.

Afin d'améliorer le potentiel entomotoxique de *Bt* dans les boues des stations d'épuration, les hypothèses suivantes ont été émises :

- ✓ L'ajout de boues de levures dans des boues préalablement hydrolysées pourrait faciliter la croissance et la sporulation de *Bt* et donc augmenter le potentiel entomotoxique.
- ✓ Il est possible qu'un mélange de boues secondaires hydrolysées (traitement thermique alcalin) à des boues secondaires non hydrolysées offre de meilleurs résultats d'entomotoxicité, en comparaison à ceux obtenus avec des boues non hydrolysées.

- ✓ Il est plausible que la croissance et la sporulation de *Bt* seraient plus importantes dans les boues hydrolysées que dans le surnageant de ces dernières, en raison de l'abondance ou de la quasi-absence de nutriments dans le milieu.
- ✓ La concentration des boues par l'ajout de polymères est plus efficace que la centrifugation, qui demande beaucoup plus de temps et d'énergie. On soupçonne que l'ajout de polymères réduit la productivité.
- ✓ Il est vraisemblable que l'hydrolyse d'un mélange de boues déshydratées et de boues secondaires mène à de meilleurs résultats quant à la croissance et l'entomotoxicité de *Bt*, que la croissance dans des boues hydrolysées déshydratées, et ce, en raison d'une meilleure disponibilité des nutriments dans les boues non déshydratées.
- ✓ Il se peut que de meilleurs résultats soient obtenus avec l'utilisation de boues hydrolysées ou non avec ajout de glucose, en comparaison à ceux obtenus avec des boues non hydrolysées ou prétraitées sans ajout de glucose. Aussi il est possible que l'ajout d'une source de carbone lors de la phase de croissance de *Bt* ait un effet sur la cinétique de croissance et, ainsi, sur la quantité de bactéries dans le milieu (cellules viables).
- ✓ Il est possible que l'ajout d'une source d'azote (organique ou minérale) en fin de phase de croissance exponentielle ait un effet sur le potentiel toxique de la bactérie. Par le fait même, il est fort possible que l'ajout de sulfate d'ammonium comme source d'azote, favorise la sporulation en plus de la synthèse des cristaux protéiques. Il en résultera donc une augmentation du nombre de spores dans le milieu, de même qu'un accroissement du potentiel entomotoxique de *Bacillus thuringiensis*.
- ✓ L'ajout d'un surfactant tel que le Tween 80 dans les boues ayant subi un traitement préalable aura probablement une influence positive sur la croissance de *Bt* de même que sur le potentiel entomotoxique (Tween 80 : augmentation du nombre de cellules et de spores viables).
- ✓ Les meilleurs résultats quant à l'utilisation des boues secondaires de Jonquière se retrouvent lors de la culture de *Bt* dans des boues de concentrations en solides se situeraient entre 25 et 35g/L, selon le traitement.

2.2 But de la recherche

Afin d'optimiser le potentiel entomotoxique de *Bacillus thuringiensis* cultivé dans des boues d'épuration, il est important de déterminer les différents paramètres et les combinaisons de traitements des boues qui produiront les meilleurs résultats quant au potentiel entomotoxique, à la croissance et à la sporulation de *Bacillus thuringiensis* var. kurstaki.

Pour ce faire, il faudra :

- ✓ Déterminer les caractéristiques physico-chimiques des boues utilisées lors des différentes expérimentations;
- ✓ Déterminer l'effet de divers ajouts d'éléments nutritifs et de surfactants sur la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité de *Bt*. Identifier les concentrations optimales de ces ajouts;
- ✓ Déterminer la courbe de croissance de *Btk* dans les différents milieux utilisés pour sa culture;
- ✓ Évaluer le potentiel entomotoxique du bioinsecticide obtenu suite à une fermentation de 36 et 48 heures.

2.3 Matériel et méthodologie

2.3.1 Culture de *Btk*

2.3.1.1 Préparation du milieu de culture

2.3.1.1.1 Échantillonnage des boues

Puisque les boues perdent beaucoup de leur valeur nutritive lors de leur conservation à 4°C, il est préférable d'aller échantillonner de nouvelles boues au début de chaque expérience. Pour ce faire, les échantillons sont recueillis directement à l'usine d'épuration des eaux (Tableau 2.2) et conservés dans des contenants de polypropylène à 4°C jusqu'à leurs utilisations ultérieures. Une bouteille contenant un échantillon de boues est recueillie pour des fins d'analyses.

Tableau 2.1 Boues des usines d'épuration employées comme milieu de culture de *Bacillus thuringiensis*.

Boues	Origine	Mode de traitement	Type
CUQ	Municipale	Biofiltration	Secondaire
Jonquière	Municipale	Boues activées	Secondaire
Jonquière	Municipale	Polymères	Déshydratée

2.3.1.1.2 Caractérisation des boues échantillonnées

La première étape de la caractérisation des boues est la détermination des matières en suspension (MES) et des solides totaux (ST). Si les boues n'atteignent pas 25 g/L de MES, il faut alors les concentrer. Une certaine portion des boues est centrifugée pendant environ 10 minutes à vitesse moyenne. Les culots recueillis sont mélangés aux boues non concentrées dans un mélangeur et les tests pour la détermination des MES et des ST seront recommencés.

En ce qui a trait à la détermination des ST, deux échantillons de 30 mL de boues sont déposés dans deux coupelles prépesées (dessiccateur 15 minutes avant pesée) et placés dans une étuve à 105°C pour une durée de 24 heures. Suite à cela, les nacelles sont pesées à nouveau. Il y a calcul des ST et la moyenne de ceux-ci est établie.

$$\frac{\text{POIDS NACELLE APRÈS 105°C (G)} - \text{POIDS NACELLE VIDE (G)}}{\text{Volume de l'échantillon de boues (L)}} = \text{G/L}$$

La deuxième analyse des boues consiste en la détermination des MES. Pour ce faire, deux échantillons de 30 mL de boues (duplicata) seront centrifugés 15 minutes à 8000 rpm. Les culots sont déposés dans des nacelles pré-pesées, comme dans le cas des ST, et sont incubés 24 heures à 105°C. Pour ce qui est du calcul, il s'effectue selon le même principe que celui des ST.

La troisième étape a pour but la détermination des matières solides volatiles (MSV). Pour ce faire, nous employons les deux nacelles qui ont servi aux ST que l'on dépose dans un four crématore à 550°C pour une durée de 15 minutes. Dans ce cas, le calcul des MSV s'effectue comme suit :

$$\frac{\text{POIDS NACELLE AVANT 550°C (G)} - \text{POIDS NACELLE APRÈS 550°C (G)}}{\text{Volume de l'échantillon de boues (L)}} = \text{G/L}$$

En quatrième étape, on détermine la concentration des matières volatiles en suspension (MVES), de la même manière que les MSV, sauf que ce sont les nacelles utilisées pour les MES qui sont utilisées.

La cinquième étape de la caractérisation consiste en la mesure du pH des boues avant et après la période de fermentation. Celle-ci est réalisée grâce à un pH-mètre Fisher Accumet 805 Mp.

Les analyses chimiques des échantillons de boue comprennent les métaux, le carbone organique total et dissout, l'azote ammoniacal et le phosphore total. Les métaux à analyser dans les boues sont Al, Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Na, Ni, Pb et Zn. On utilise l'acide nitrique ACS, l'acide hydrofluorhydrique ACS et le peroxyde d'hydrogène (MENVIQ 89.12/213-mét. 1.3). Les solutions sont ensuite analysées dans un ICP (modèle Atom Scan 25 de *Thermo Jarrell Ash Corporation*), ou spectrophotométrie à émission de plasma, d'après la méthode 305 de *Standard Methods*. La digestion d'un matériel de référence MESS-1 du Conseil National de Recherches du Canada sert à la vérification de l'estimation des concentrations en métaux.

La détermination du phosphore total dans les boues est réalisée selon la technique de « *Determination of orthophosphate by flow injection analysis colorimetry* » selon la méthode QuickChem 10-115-01-1-B.

L'azote ammoniacal, pour sa part, est mesuré par la technique de « *Determination of ammonia by flow injection analysis* » selon la méthode QuickChem 10-107-06-2-B.

La détermination de l'azote total est effectuée par la technique de « *Determination of total kjeldahl nitrogen in soils and plants by flow injection analysis* » d'après la méthode QuickChem 13-107-06-2-D.

Finalement, le carbone organique total et dissout est déterminé à l'aide d'un analyseur TOC-5000A de Shimadzu (Japon).

2.3.1.1.3 Prétraitement des boues

Trois types d'hydrolyses ont été réalisés lors des expérimentations, soient le traitement oxydant, l'hydrolyse alcaline et l'hydrolyse thermique et alcaline. À noter que l'hydrolyse n'a été effectuée que sur des boues contenant 35 g/L de solides puisque c'est la concentration en MES qui offre les meilleurs résultats quant aux comptes de cellules et de spores, de même que d'entomotoxicité (Barnabé, 2000).

Le traitement oxydant consiste à abaisser le pH des boues à 3,0 avec une solution de H₂SO₄ 2N. Par la suite, 0,03 mL d'une solution de peroxyde d'hydrogène (30 % v/v) par gramme de MES est mélangé aux boues. Les boues sont placées dans un bain-marie *360 Orbital Shaker Bath* de Précision *Scientifics* (É.-U.) pour une durée de deux heures à une température de 70°C avec une agitation de 60 tours la minute. Finalement, le pH des boues est ramené à la neutralité par l'ajout d'une solution de NaOH 2N et stérilisée 30 minutes à 121°C (Barnabé, 2000).

Le traitement alcalin est réalisé en élevant le pH des boues à une valeur de 10, avec une solution de NaOH concentrée à 2N. Les fioles de boues sont ensuite placées dans un incubateur *Sanyo orbital incubator* de *Sanyo Gallenkamp* (Royaume-Uni) pour un séjour de 24 heures à une température de 30°C avec une agitation de 200 tours par minute. En dernier lieu, les boues sont réajustées à un pH de 7,0 avec une solution de H₂SO₄ 2N et autoclavées à 121°C pendant 30 minutes (Barnabé, 2000).

Le traitement thermique alcalin est la combinaison d'un traitement alcalin, suivi d'un traitement thermique. Il est essentiel que le pH des boues soit amené à 10, avant le traitement thermique. Par la suite, les boues sont réparties dans des petits récipients de Téflon allant au four à micro-ondes. Le traitement consiste à chauffer les boues à 140°C pendant une durée de 30 minutes.

L'hydrolyse ainsi terminée, le pH des boues est rapporté à la neutralité, et la fiole de 100 mL de boues hydrolysées est autoclavée 30 minutes à 121°C (Barnabé, 2000).

À noter que l'ensemble des prétraitements réalisés au cours de ce travail de recherche a fait l'objet d'une hydrolyse thermique alcaline, puisque c'est avec cette méthode d'hydrolyse que Barnabé (2000) a obtenu les meilleurs résultats de croissance, de sporulation et d'entomotoxicité.

2.3.1.1.4 Surnageant des boues

Afin d'obtenir le surnageant des boues non hydrolysées ou hydrolysées, celles-ci sont centrifugées. Pour ce faire, elles sont déposées dans des récipients à centrifugeuse et y séjournent 15 minutes à 8000 rpm. Par la suite, 100 mL de surnageant est recueilli dans une fiole de 500 mL. Le contenu de la fiole est ajusté à pH 7 puis autoclavée 30 minutes à 121°C.

2.3.1.2 Préparation de l'inoculum

2.3.1.2.1 *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*

La souche de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 (*Btk*) utilisée pour ce travail de recherche provient de la collection de H.T. Dulmage obtenue du centre de foresterie des Laurentides (Sainte-Foy, Québec, Canada). Une culture active est maintenue sur des stries de pétris de la gélose (*Tryptic Soy Agar*, 4% (v/v)). Ces derniers sont incubés à 30°C pendant 2 jours, puis stockés à 4°C pour des utilisations ultérieures.

2.3.1.2.2 Culture de départ

La préparation du milieu TSB (*Tryptic soy broth*) est effectuée dans un Erlenmeyer de 500 mL. 3% (v/v) de TSB est mélangé à 100 mL d'eau distillée. Le tout est stérilisé en autoclave à 121°C pour une durée de 15 minutes. Une colonie de *Bt* prélevée d'un pétri TSA (*Tryptic soy agar*, 4% (v/v)) (souche mère) estensemencée dans le milieu refroidi. L'ensemencement de même que les étapes suivantes des expérimentations s'effectuent en milieu stérile. Finalement, les fioles de culture de départ (duplicata) sont incubées à 30°C sous une agitation constante de 250 rpm, et ce, pour une durée de 8 à 12 heures. La vérification du contenu de la culture de départ a été effectuée au microscope à un grossissement de 1000X.

2.3.1.2.3 Préculture

Les précultures sont composées de 100 mL de boues d'épuration contenant 25 g/L de MES (matières en suspension) dans un Erlenmeyer de 500 mL. Les boues sont amenées à un pH neutre par l'ajout de base (NaOH) et d'acide (H₂SO₄). À la suite d'une stérilisation le pH des boues a tendance à diminuer aux environs de 6,6-6,8. Pour contrer ce problème de baisse de pH, les fioles ont préalablement été ajustées à un pH de 7.5 et, par la suite, stérilisées à 121°C pour une durée de 30 minutes. Le contenu refroidi estensemencé avec 2% (v/v) de la culture de départ et incubé durant 10 à 16 heures à 250 rpm dans un incubateur à 30°C.

2.3.1.2.4 Inoculation des fioles

On vérifie la croissance de *Bt* au microscope avant d'effectuer l'inoculation des fioles de boues. Les fioles contiennent des boues dont les concentrations en MES sont variables selon les expériences. Elles sont ajustées à un pH 7.5 par l'ajout d'acide (H₂SO₄) et de base (NaOH) avant d'être stérilisées à 121° C, 30 minutes. 2% (v/v) de la préculture est ajoutée à chacune des fioles à tester. Tout au long de l'expérimentation (48 heures) elles seront incubées à 30°C sous une agitation constante de 250 rpm.

2.3.1.3 Échantillonnages

Lors de la fermentation, des échantillons de chacune des fioles sont prélevés. Au total, 6 échantillons par fiole sont recueillis durant l'expérience. Il a été convenu des temps d'échantillonnages suivants : 0, 12, 24, 30, 36 et 48 heures. Pour chacun des temps mentionnés, un échantillon de 4 mL sera conservé à 4°C. Les échantillons de 36 et 48 heures sont utilisés pour tester le potentiel entomotoxique du biopesticide.

2.3.1.4 Essais de caractérisation des produits de fermentation

2.3.1.4.1 Dénombrement des cellules et des spores

Pour la dilution des échantillons, des tubes contenant 4,5 mL d'une solution 0.85% de NaCl stérile (15 minutes à 121°C) ont été utilisés. L'étalement de la dilution approprié est réalisé sur des pétris (TSA, 4% (v/v)).

On effectue les dilutions en prélevant 0.5 mL de l'échantillon agité préalablement dans un tube à dilution (4.5 mL, 0.85% NaCl). Le nombre de dilutions est fonction du temps de fermentation : plus le temps de fermentation est avancé, plus le facteur de dilution sera élevé, ceci permettant l'obtention de résultats statistiquement valables (entre 20 et 300 colonies).

Le dénombrement des cellules viables est réalisé par l'étalement de 0.1 mL des dilutions déterminées préalablement à l'aide d'un râteau de verre flambé avec de l'alcool 95%, sur 3 pétris (triplicata) de milieu TSA.

Le dénombrement des spores viables s'est effectué en incubant les tubes à dilution à 80°C pour une durée de 10 minutes. Par la suite, ces derniers ont été étalés par râteau de verre en déposant 0.1 mL de la dilution appropriée en triplicata.

Finalement, les pétris seront déposés dans une étuve pour être incubés à 30°C pendant 16 à 24 heures.

Le temps d'incubation des pétris complété, il y a alors comptage des unités formatrices de colonies (UFC) sur chacun des pétris. Pour ce faire, il est important de tenir compte de certains critères :

- ✓ Seules les colonies plus grandes que 1 mm seront prises en compte;
- ✓ Ne seront considérés que les pétris contenant entre 20 et 300 colonies;
- ✓ Éliminer les pétris présentant beaucoup de colonies confluentes;
- ✓ Faire preuve d'un bon jugement avant de compter deux colonies en présence de colonies confluentes.

2.3.1.4.2 Bio-essais

Afin de déterminer le potentiel entomotoxique des produits de la fermentation, on effectue les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} des différents échantillons à tester, du biopesticide standard (Foray 76B) et des boues utilisées lors des expériences (témoin). Il est à noter que les bio-essais ont été réalisés sur les échantillons après 36 et 48 heures de fermentation. Les meilleurs résultats ont été rapportés à 48 heures.

Par la suite, 500 mL d'une solution de 3% d'agar stérile (15g) est ajoutée à 500 mL de diète stérile. Le tout est mélangé et conservé dans un bain-marie à environ 50°C afin de conserver l'agar liquide. Suite à cela, 30 mL de cette diète sont déposés dans un petit Erlenmeyer de 100 mL et mélangés avec 1,5 mL de la dilution de l'échantillon à tester. Il est important de très bien agiter le contenant pour une bonne homogénéisation des constituants. Finalement, 1 mL du mélange est déposé dans chacun des 20 tubes (un groupe de 20 tubes pour chaque dilution de chaque échantillon).

Lorsque tous les échantillons, le standard et les témoins (boues et diète seulement) sont réalisés et que la diète est solidifiée, on dépose une larve de troisième âge de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (*Choristoneura fumiferana*) dans chacun des tubes. Ces derniers sont recouverts de bouchons troués et préalablement désinfectés aux rayons ultraviolets. Les larves sont laissées dans les tubes à la température de la pièce pour une durée minimale de 9 jours. Le comptage des larves mortes après 9 jours permet de calculer la mortalité cumulée par dilution et la toxicité pour chacun des échantillons. Pour ce faire, on emploiera la formule suivante :

$$\frac{\% \text{ mortalité échantillon } n(10^{-3})}{\% \text{ mortalité standard } (10^{-3})} + \frac{\% \text{ mortalité échantillon } n(10^{-4})}{\% \text{ mortalité standard } (10^{-4})} + \frac{\% \text{ mortalité échantillon } n(10^{-5})}{\% \text{ mortalité standard } (10^{-5})} \times \text{Foray 76B}$$

Pour la validité de l'expérience, il faut que le témoin (échantillon de boue stérilisée) avec la diète seule n'excède pas 10% de mortalité, soit : 2 morts dans les 20 tubes, sinon l'essai doit être intégralement recommencé.

Tableau 2.2 Composition de la diète par 100 ml de milieu (McMorran, 1965)

Ingrédients	Quantité
Distilled water	22 ml
Casein, vitamin free	3.5g
4 M Potassium hydroxide	0,5ml
Cellulose power (Alphacel)	0,5g
Salt mixture	1g
Sucrose	3,5g
Wheat embryo	3g
Choline chloride	0,1g
Vitamin solution	1ml
Ascorbic acid	0,4g
Antimicrobial agents:	
Formalin (37% formaldehyde)	0,05ml
Methyl parahydroxybenzoate	0,15g
Aureomycin	0,03g
Nutrient agar 4% W/v	62ml

2.3.2 Méthodologie

2.3.2.1 Effet des divers ajouts sur la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité de *Bt*

1^{ère} série d'expériences : Boues de levures

Les boues de levures sont obtenues suite à un traitement secondaire des effluents de la brasserie de Chambly. Elles sont principalement composées de levures (Tableau 1.2). Cette source d'azote et de vitamines a été ajoutée au tout début de l'expérience (stérilisées séparément), à raison de 1, 2, 3, 4 et 5 g/L et n'a pas été hydrolysée. De plus, ces ajouts de boues de levures ont été effectués dans des boues hydrolysées de même que dans boues non hydrolysées afin de faire une comparaison entre les deux types de boues. Pour toutes les stratégies, une fiole témoin a été jointe à l'expérience.

2^{ème} série d'expériences: Glucose

Dans ces expériences, le glucose a été ajouté à des boues non hydrolysées (25 g/L) et à des boues hydrolysées (35 g/L) dans le but de faire une comparaison. Aussi, il est important de mentionner que le glucose a été additionné aux boues dès le début de la fermentation (il a été stérilisé séparément) et n'a pas été hydrolysé. 0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L sont les concentrations de glucose qui ont été ajoutées aux boues.

3^{ème} série d'expériences: Sulfate d'ammonium

L'ajout du sulfate d'ammonium a été réalisé sur des boues hydrolysées et sur des boues n'ayant pas subi de prétraitement. Le sulfate d'ammonium, stérilisé séparément, a été introduit dans les boues au début de la fermentation à des concentrations de 1, 2 et 3 g/L (toujours accompagné d'une fiole témoin) et n'a pas subi l'étape de l'hydrolyse.

4^{ème} série d'expériences: Glucose et sulfate d'ammonium

Le glucose et le sulfate d'ammonium ont été stérilisés dans des fioles distinctes. Les concentrations de ces deux composés ont été déterminées d'après les meilleurs résultats obtenus dans les expérimentations précédentes. Ainsi, pour ce qui est du glucose, il a été ajouté au temps

0 heure de l'expérience, à une concentration de 3 g/L dans les boues non hydrolysées et à une concentration de 1 g/L dans les boues hydrolysées. Dans le cas du sulfate d'ammonium, l'ajout a été effectué au temps 12 heures, à une concentration de 1 g/L dans les deux types de boues, afin de confirmer le rôle de l'azote dans la sporulation.

5^{ème} série d'expériences: Polymères

L'utilisation des polymères pour concentrer les boues n'a pas été efficace. Le passage d'une concentration initiale de 25 g/L à une concentration finale des boues de 30 g/L a été très laborieux. En effet, lors des essais avec le PERCOL 757, une durée de décantation d'environ deux semaines a été nécessaire à l'obtention de cette concentration finale. L'expérience a été réalisée en utilisant 100 mL de boues stériles concentrées avec l'ajout de polymères.

6^{ème} série d'expériences: Tween 80

L'expérience avec le Tween 80 a été réalisée à des concentrations de 0.1, 0.2, 0.3 et 0.4 % (v/v), dans des boues hydrolysées et non hydrolysées. L'ajout du surfactant s'est effectuée avec l'aide d'une pipette de 1000 μ L (P 1000) et il n'a pas subi de traitement d'hydrolyse. Pour toutes les expériences, une fiole témoin (boues sans ajout) a été jointe à l'expérience.

2.3.2.2 Divers traitement sur les boues

1^{ère} série d'expériences : Centrifugation

L'épaississement des boues par centrifugation est réalisé à 8000 tours par minutes pour une durée de 10 minutes. Il faut produire 100 mL de boues stériles à 30 g/L pour les besoins de l'expérience.

2^{ème} série d'expériences: Boues hydrolysées mélangées à des boues non hydrolysées

Dans cette expérience, l'effet de l'ajout de certains pourcentages de boues hydrolysées dans des boues non hydrolysées a été testé. Un volume de 100 mL est employé. Les mélanges de 25 % de boues hydrolysées dans 75 % non hydrolysés, 50 % hydrolysées avec 50 % non hydrolysées et finalement 75 % hydrolysées mélangées à 25 % de boues non hydrolysées ont été réalisés.

3^{ème} série d'expériences: Boues secondaires de Jonquière

Dans cette expérience, les boues secondaires et déshydratées de Jonquière ont été utilisées afin de déterminer l'effet des polymères utilisés pour la déshydratation des boues. Diverses concentrations (20, 25, 30 et 35 g/L) de boues secondaires de Jonquière non hydrolysées ont été utilisées. Une fiole supplémentaire de 25 g/L de boues de Jonquière déshydratées non hydrolysés a été ajoutée afin de pouvoir faire un parallèle entre les deux types de boues.

4^{ème} série d'expériences: Boues déshydratées de Jonquière

Afin d'utiliser les boues déshydratées comme milieu de culture, ces dernières doivent être réhydratées. Pour ce faire, les boues ont été mélangées avec de l'eau distillée. L'expérience s'est déroulée à des concentrations en solides de 20, 25, 30 et 35 g/L dans des boues prétraitées.

5^{ème} série d'expériences: Mélange de boues secondaires et déshydratées de Jonquière

Dans ce cas-ci, au lieu d'ajouter de l'eau aux boues déshydratées de Jonquière, il y eu mélange de ces dernières avec des boues secondaires de Jonquière, puisqu'elles sont de même provenance. Ainsi, quatre fioles de 100 mL de boues à des concentrations de 20, 25, 30 et 35 g/L avec prétraitement initial des boues ont été testées.

CHAPITRE III : Résultats et Discussions

CHAPITRE 3 – RÉSULTATS ET DISCUSSIONS

3.1. Analyse physico-chimique des boues

Les boues d'épuration contiennent plusieurs éléments pouvant être utilisés comme facteurs de croissance par *Bacillus thuringiensis*. Cependant, il est possible que certains types de boues conviennent moins bien à la culture de la bactérie, et ce, en raison de concentrations trop élevées ou trop faibles en certains éléments chimiques et en métaux. Dans cette section, sont présentées les caractéristiques des boues de différents types et origines qui ont été utilisées dans ces expérimentations.

Tableau 3.1 Moyenne des résultats des caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	20
Solides volatils	10
Solides en suspension	15
pH	5,7
Paramètres chimiques	
C (%)	32
N (%)	6
N-NH ₃ (mg/kg)	623
N-NO ₂ +NO ₃ (mg/kg)	12
P-total (mg/kg)	12 423
Métaux	
Al	15 325
Ca	18 538
Cd	4
Cr	81
Cu	255
Fe	11 301
K	2 176
Pb	73
Zn	550

Tableau 3.2 Caractéristiques physico-chimiques des boues de levures de Chambly

Boues déshydratées	
Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	172
Solides volatils	129
Solides en suspension	119
Solides volatils en suspension	88
Paramètres chimiques	(mg/kg)
Carbone	457 500
Azote total	82 200
Azote ammoniacal	4 778
Orthophosphate	1 152
Métaux	(mg/kg)
Al ³⁺	251
Ca ²⁺	2 526
Cd	0,27
Cr	7,6
Cu ⁺	29
Fe	4 301
K ⁺	6 825
Na ⁺	2 145
Pb	2,2
Zn	<0,002

Tableau 3.3 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires et déshydratées de Jonquière

	Boues secondaires	Boues déshydratées
Paramètres physiques	(g/L)	(g/Kg)
Solides totaux	22.2 ± 0.1	142.5 ± 0.4
Solides volatils	13.3 ± 0.1	84.5 ± 0.4
Solides en suspension	20.0 ± 0.2	
Solides volatils en suspension	12.4 ± 0.1	
Paramètres chimiques	(mg/kg)	(mg/kg)
Carbone	459 975	307 940
Azote total	67 546	46 800
Azote ammoniacal	1 085	95
Soufre	3475	8 060
Orthophosphate	4 750	6 285
Métaux	(mg/kg)	(mg/kg)
Al ³⁺	10 468	17 600
Ca ²⁺	20 756	17 000
Cd	0.5	5
Cr	128	286
Cu ⁺	124	267
Fe	3 165	12 833
K ⁺	2 543	2 760
Na ⁺	3 860	4 580
Pb	38	73
Zn	420	630

*Données recueillies à partir des tableaux 1 et 2 de Vidyarthi et al., 2002.

3.2. Influences des sources additionnelles de nutriments dans la production de *Bacillus thuringiensis*

3.2.1. Glucose

3.2.1.1. Résultats

La Figure 3.2.1 montre les valeurs maximales de cellules viables, de spores et d'entomotoxicité obtenues dans des boues secondaires non hydrolysées de la CUQ à 25 g/L de matières en suspension, avec l'ajout de 0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L de glucose. Nous remarquons que les meilleurs résultats, quant aux nombres de cellules (2.3×10^9 UFC/mL) et de spores (1.9×10^9 UFC/mL) sont retrouvés lorsque 3 g/L de glucose sont additionnés aux boues (annexe A). On peut observer sur l'histogramme que le résultat d'entomotoxicité le plus élevé a été obtenu lors de l'ajout de 1 g/L (14 367 UI/ μ L). Par contre, le résultat d'entomotoxicité le plus faible est obtenu lorsqu'il n'y a pas d'ajout de glucose (10 566 UI/ μ L). Quant aux résultats des cellules (6.27×10^8 UFC/mL) et des spores (4.17×10^8 UFC/mL) les plus faibles, ils sont obtenus lors de l'ajout de 5 g/L (annexe A). On remarque aussi une tendance dans l'augmentation du nombre de cellules et de spores de 0 g/L à 3 g/L et une diminution marquée à partir de 4 g/L. Par contre, dans le cas des résultats d'entomotoxicité, il y a diminution à partir de 1 g/L. En dernier lieu, il est important de mentionner que le potentiel entomotoxique à 4 g/L et 5 g/L n'a pas été déterminé en raison des faibles résultats obtenus quant aux cellules et aux spores.

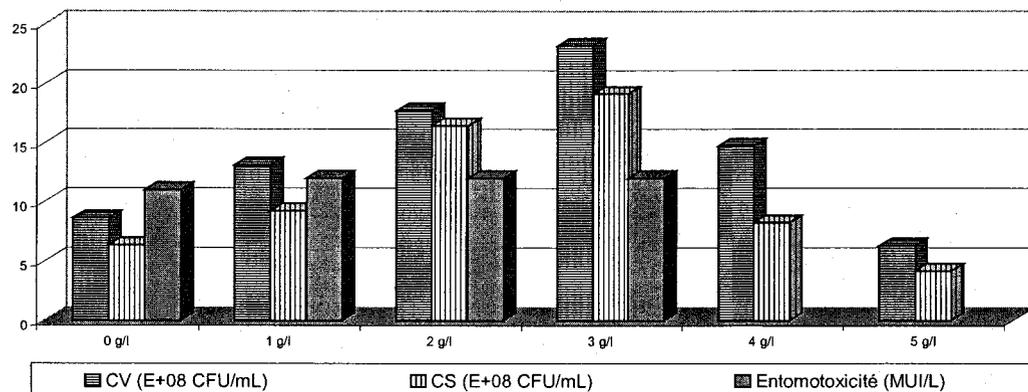


Figure 3.2.1. Maximums de cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose.

La Figure 3.2.2 représente le nombre maximal de cellules viables, de spores et d'entomotoxicité obtenus dans des boues secondaires hydrolysées de la CUQ à 35 g/L de matières en suspension, avec l'ajout de 0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L de glucose. Les meilleurs comptes de cellules (2.5×10^{10} UFC/mL) sont enregistrés pour un ajout de 2 g/L de glucose (annexe A). Cependant, c'est lorsque 1 g/L de glucose est ajouté aux boues qu'on retrouve le plus grand nombre de spores (1.9×10^{10} UFC/mL). Pour ce qui est des potentiels d'entomotoxicité, on retrouve des résultats semblables lors de l'ajout de 0 g/L (14 482 UI/ μ L), de 1 g/L (14 778 UI/ μ L), de 2 g/L (15 147 UI/ μ L) et de 3 g/L (14 852 UI/ μ L). Cependant, un ajout de 5 g/L de glucose donne les résultats les plus faibles du nombre de cellules (2.5×10^9 UFC/mL) et de spores (1.9×10^9 UFC/mL) (annexe A). De façon générale, on remarque une augmentation du nombre de cellules et de spores de 0 à 3 g/L, suivi d'une diminution pour les concentrations en glucose supérieures. Aussi, c'est en raison des faibles résultats de croissance et de sporulation que l'entomotoxicité des échantillons recueillis à 4 g/L et 5 g/L n'a pas été déterminé.

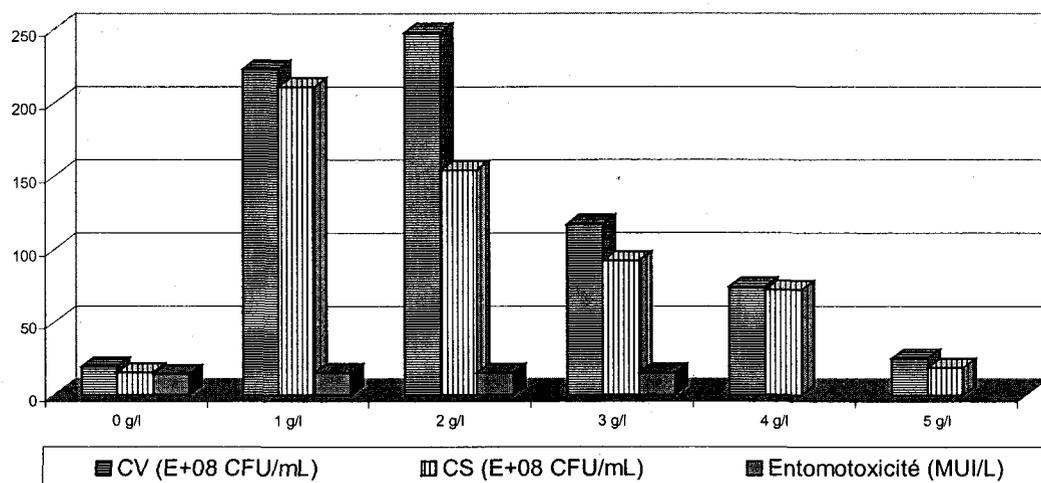


Figure 3.2.2. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose.

Tableau 3.4 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (10 mai 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	20
Solides volatils	10
Solides en suspension	15
pH	5,9
Paramètres chimiques	
C (%)	27
N (%)	6
N-NH3 (mg/kg)	657
N-NO2+NO3 (mg/kg)	8
P-total (mg/kg)	13 600
Métaux	
Al	15 500
Ca	20 700
Cd	3
Cr	83
Cu	267
Fe	10 500
K	2 367
Pb	69
Zn	581

Tableau 3.5 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de glucose.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
1 g/L glucose NH*	13.1	9.2	14 367
2 g/L glucose NH	17.7	16.4	13 636
3 g/L glucose NH	23.2	19.1	12 232
4 g/L glucose NH	14.7	8.2	
5 g/L glucose NH	6.3	4.2	
1 g/L glucose H*	205.0	190.0	12 723
2 g/L glucose H	248.0	155.0	13 633
3 g/L glucose H	117.0	92.3	13 522
4 g/L glucose H	74.3	72.3	
5 g/L glucose H	25.0	18.7	

*NH : Boues de la CUQ non hydrolysées

* H : boues de la CUQ hydrolysées

3.2.1.2. Discussion

Puisque le glucose est une source de carbone organique facilement assimilable (voie de la glycolyse) par *Bacillus thuringiensis*, l'ajout de ce dernier dans des boues d'épuration non hydrolysées ou hydrolysées devrait avoir un effet positif sur le nombre de cellules et par conséquent, sur le nombre de spores (Prescott et al.1995).

En effet, on observe une augmentation générale des cellules et des spores dans les Figures 3.2.1 et 3.2.2 présentées plus haut. On remarque des augmentations aussi grandes que 13 fois dans le cas des cellules suite à l'ajout de 2 g/L de glucose dans des boues hydrolysées et une hausse de 14 fois le nombre de spores dans des boues hydrolysées avec ajout de 1 g/L de glucose, en comparaison avec les résultats des fioles témoins. Dans les boues non hydrolysées, on obtient une augmentation de 3 fois le nombre de cellules et de spores dans des boues auxquelles ont été ajouté 3 g/L de glucose.

Il est important de mentionner que l'ajout de 5 g/L de glucose à des boues non hydrolysées a donné des résultats contraires à ceux attendus. Il est probable que le carbone, à raison de 5 g/L de glucose, s'est retrouvé en excès dans les boues. Cela a provoqué l'inhibition de la croissance cellulaire et a eu, par le fait même, un effet direct sur la sporulation, suite à une accumulation de déchets métaboliques toxiques (Luthy et al., 1982). Pour l'ensemble des autres concentrations en

glucose ajoutées aux boues non hydrolysées et hydrolysées, les résultats quant aux comptes cellulaires et de spores, présentent tous une augmentation plus ou moins forte selon le cas, par rapport aux résultats obtenus en comparaison avec les fioles témoins.

En regard du potentiel entomotoxique, tous les échantillons testés, que ce soit dans des boues hydrolysées ou non, démontrent des hausses de l'entomotoxicité comparées à celles obtenues avec les témoins. On note entre autres, une augmentation de 17 % dans le cas des boues non hydrolysées, et une légère hausse de 7 % dans des boues hydrolysées.

La diminution des valeurs de potentiel entomotoxique faisant suite aux meilleurs résultats obtenus dans des boues hydrolysées ou non hydrolysées, s'explique encore une fois en raison d'un trop grand apport en source de carbone. Dans ce cas, la bactérie secrète beaucoup d'acétate qui induit une baisse dramatique du pH, ce qui affectera la dynamique de croissance, le pourcentage de sporulation et la formation des cristaux protéiques chez *Bacillus thuringiensis* (Atlas et al., 1997).

3.2.2. Boues de levures

3.2.2.1. Résultats

La Figure 3.2.3 représente les maximums de cellules viables, de spores et d'entomotoxicité obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de la CUQ à 25 g/L, avec l'ajout de 0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L de boues de levures de la brasserie *Unibroue* de Chambly. Nous pouvons y observer les valeurs maximales de cellules (8.7×10^8 UFC/mL) et de spores (6.33×10^8 UFC/mL) lorsque 1 g/L de boues de levures est ajouté (Annexe B). Par contre, pour ce qui est de la valeur maximale d'entomotoxicité (13 300 UI/ μ L), elle a été obtenue en ajoutant 2 g/L. Pour ce qui est des résultats minimums de compte de cellules et de spores, ils sont obtenus à partir de 3 g/L jusqu'à 5 g/L (Annexe B). En ce qui a trait aux résultats d'entomotoxicité, on remarque une allure croissante de 0 g/L à 2 g/L, passant de 10 566 à 13 300 UI/ μ L. Pour ce qui est des résultats du potentiel entomotoxique à 3, 4 et 5 g/L, ils n'ont pas été effectués, en raison des piètres résultats obtenus pour le compte des cellules et des spores. Ces derniers, sans être des éléments de certitude, semblent souvent avoir un lien avec l'entomotoxicité du biopesticide, puisque

pendant sa sporulation, *Bacillus thuringiensis* produit une spore et généralement un cristal protéique (Hannay, 1953).

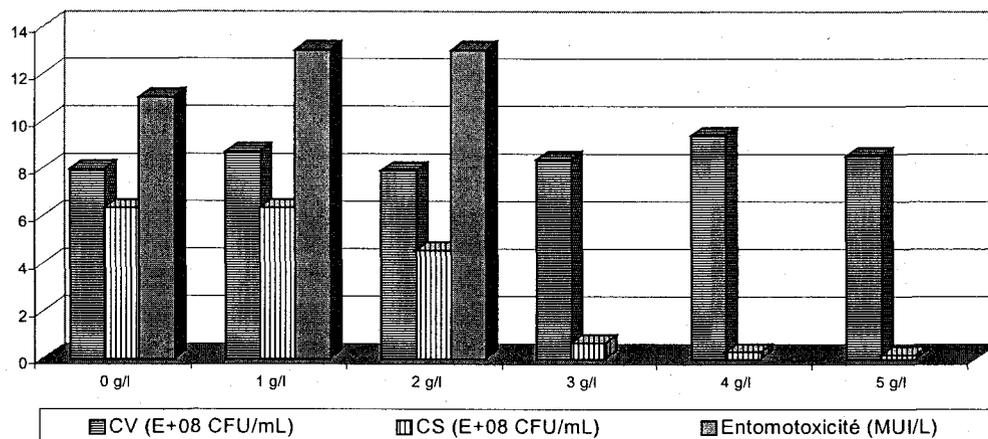


Figure 3.2.3. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures.

La Figure 3.2.4 représente le nombre de cellules viables, de spores et les valeurs d'entomotoxicité maximums obtenus lors de la culture de *Bt* dans des boues secondaires hydrolysées de la CUQ à 35 g/L, en ajoutant 0, 1, 2, 3, 4 et 5 g/L de boues de levures de la brasserie *Unibroue* de Chambly. Nous pouvons y observer la valeur maximale d'entomotoxicité (15 406 UI/ μ L), obtenue lorsque 1 g/L de boues de levures est ajouté aux boues secondaires. Pour ce qui est des valeurs maximales de compte de cellules (1.84×10^9 UFC/mL) et de spores (1.27×10^9 UFC/mL), ils ont été obtenus lorsqu'aucune concentration de boues de levures n'a été ajoutée. Cependant, on retrouve le minimum de compte de cellules (8.2×10^8 UFC/mL) à 2 g/L de boues de levures et le minimum de spores (3.5×10^8 UFC/mL) lorsque 5 g/L de boues de levures sont ajoutés (Annexe B). En ce qui à trait au minimum de potentiel d'entomotoxicité, il a été obtenu à 0 g/L. À noter que les potentiels entomotoxiques des cristaux protéiques n'ont pas été réalisés pour les concentrations 3, 4 et 5 g/L de boues de levures, compte tenu des faibles

résultats quant aux comptes de cellules et de spores, de même qu'à la diminution des résultats d'entomotoxicité de 1 g/L à 2 g/L de boues de levures.

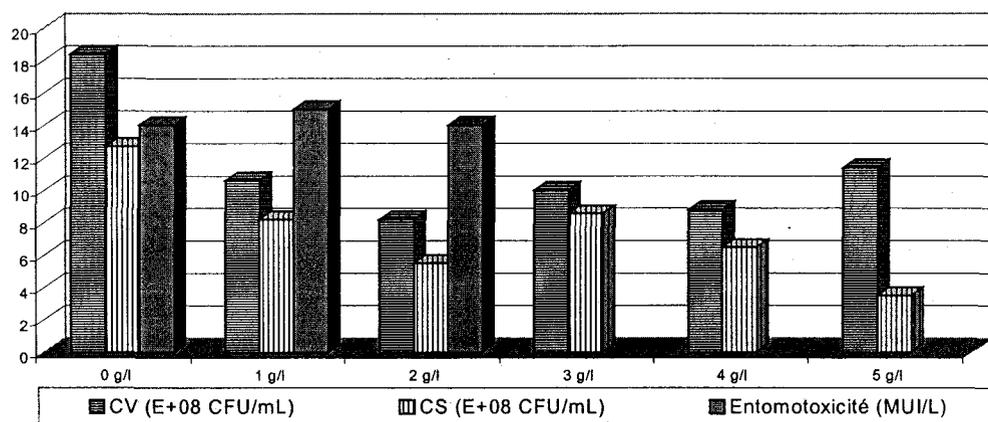


Figure 3.2.4. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures.

Pour ce qui est de la Figure 3.2.5, elle représente les maximums de cellules, de spores et d'entomotoxicité obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) et hydrolysées (35 g/L) de la CUQ, suite à l'ajout de 1 g/L d'extraits de levures. Nous pouvons tout d'abord observer des valeurs de compte de cellules, de spores et d'entomotoxicité, beaucoup plus grandes dans le cas des boues hydrolysées que les boues non hydrolysées. En effet, nous remarquons comme valeurs maximales de compte de cellules (2.92×10^{10} UFC/mL) et de spores (2.51×10^{10} UFC/mL) (Annexe B) et de potentiel entomotoxique de 15 683 UI/ μ L dans des boues hydrolysées, en comparaison à des valeurs de compte de cellules (5.97×10^9 UFC/mL) et de spores (2.08×10^9 UFC/mL) et d'entomotoxicité de 11 083 UI/ μ L dans des boues non hydrolysées.

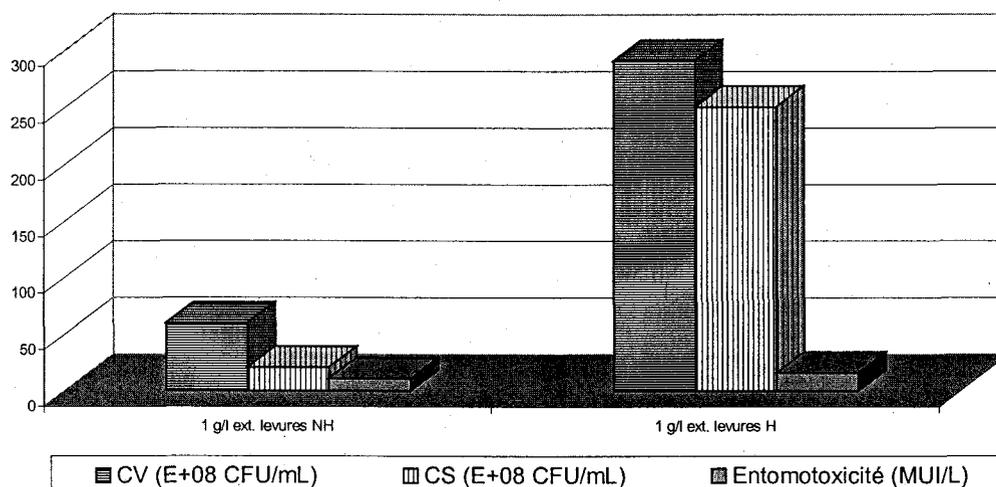


Figure 3.2.5. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) et hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations d'extraits de levures.

Tableau 3.6 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (3 juin 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	23
Solides volatils	12
Solides en suspension	18
pH	5,9
Paramètres chimiques	
C (%)	32
N (%)	5
N-NH3 (mg/kg)	582
N-NO2+NO3 (mg/kg)	<12
P-total (mg/kg)	14 100
Métaux	
Al	15 400
Ca	19 400
Cd	4
Cr	82
Cu	271
Fe	12 000
K	2 520
Pb	83
Zn	567

Tableau 3.7 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de boues et d'extraits de levures.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
1 g/L b. levures NH*	8.7	6.33	12 746
2 g/L b. levures NH	7.9	4.53	13 485
3 g/L b. levures NH	9.2	0.7	
4 g/L b. levures NH	9.4	0.3	
5 g/L b. levures NH	8.5	0.2	
1 g/L ext levures NH	59.7	20.8	11 083
1 g/L b. levures H*	10.6	8.23	15 295
2 g/L b. levures H	6.27	5.53	14 297
3 g/L b. levures H	9.9	8.6	
4 g/L b. levures H	8.8	6.5	
5 g/L b. levures H	11.4	3.5	
1 g/L ext levures H	292.0	251.0	14 647

*NH : Boues de la CUQ non hydrolysées.

*H : Boues de la CUQ hydrolysées.

3.2.2.2. Discussion

Puisque la croissance cellulaire est dépendante de la disponibilité en sources de carbone dans le milieu, l'azote n'est que faiblement responsable de l'augmentation du nombre de cellules dans les boues hydrolysées ou non. Aussi, il est important de rappeler que l'induction de la sporulation chez *Bacillus thuringiensis* est causée par une carence en source d'azote dans le milieu de culture (Yang et Wang 2000). Donc, si l'on ajoute de l'azote dans les débuts de la fermentation, il est probable qu'il y ait un effet négatif sur le taux de sporulation dans les boues enrichies avec des boues de levures, qui sont très riches en vitamines (Pearson et al., 1988). Cependant, l'azote sous forme organique étant très important pour la synthèse complète des cristaux protéiques de *Bt*, cet ajout devrait influencer positivement le potentiel entomotoxique des protéines toxiques (Tirado-Montiel et al., 2001).

Les expériences réalisées démontrent qu'il n'y a pas de différences significatives quant aux nombres de cellules dans les boues non hydrolysées après ajout d'azote organique (boues de levure). Cependant, dans les boues hydrolysées, on observe des baisses de plus de 2 fois le nombre de cellules suite à l'ajout de boues de levures.

En ce qui à trait à la sporulation, on remarque des baisses marquées du nombre de spores dans les boues non hydrolysées et hydrolysées, comme démontré dans les Figures 3.2.3 et 3.2.4. Le contrôle métabolique de l'azote (Pearson et al., 1988) peut être une explication de cette baisse du taux de sporulation. En effet, les protéases hydrolysent les protéines et les polypeptides en acides aminés moins complexes qui sont par la suite transportés dans la cellule et métabolisés. Il y a ensuite désamination des acides aminés, qui sont alors convertis en pyruvate, en acétyl-CoA ou en un intermédiaire du cycle des acides tricarboxyliques, et suite à une oxydation, libèrent de l'énergie. Cependant, l'excès d'azote provenant de la désamination est excrété sous la forme d'ions ammonium (Prescott et al., 1995). Le milieu devient alors alcalin, ce qui peut gêner le processus de la sporulation chez *Bt* et expliquerait les baisses corrélées aux différentes concentrations en boues de levures ajoutées.

Pour ce qui est du potentiel entomotoxique, on remarque des hausses de 22 à 26 % dans des boues non hydrolysées, et de 2 à 9 % dans des boues préalablement hydrolysées. Cette augmentation de l'entomotoxicité est attribuable à l'azote organique présent en abondance dans les boues de levures qui est essentiel à la constitution des cristaux protéiques. De plus, la présence de ce dernier dans le milieu peut affecter le taux de synthèse des δ -endotoxines, de même que leurs propriétés (Perani et al., 2000).

Dans le cas de l'ajout d'extraits de levures dans les boues (figure 3.2.5), on note une augmentation de près de 8 fois le nombre de cellules et de 3 fois celui des spores dans les boues non hydrolysées. Dans les boues hydrolysées cependant, il y a augmentation de 16 fois le nombre de cellules et de 20 fois les spores.

Ces améliorations des comptes de cellules et de spores, contraires aux résultats obtenus avec les boues de levures, sont attribuables au fait que les extraits de levures sont plus facilement assimilables par la bactérie, puisque l'azote est retrouvé sous une forme plus simple, donc plus disponible, et qu'ils sont très riches en azote total (Tableau 1.1).

Pour ce qui est du potentiel entomotoxique, on remarque une augmentation tout comme vu précédemment. Cette dernière, comme dans le cas des boues de levures, est la conséquence

d'une source d'azote organique abondante et assimilable dans le milieu, ce qui influence la synthèse des cristaux protéiques (Zouari et al.,1999).

3.2.3. Sulfate d'ammonium

3.2.3.1. Résultats

La Figure 3.2.6 représente les résultats maximums du nombre de cellules, de spores et d'entomototoxicité obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées à 25 g/L de la CUQ, avec l'ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium. Nous pouvons remarquer que les meilleurs résultats quant aux nombres de cellules (1.7×10^9 UFC/mL) et de spores (1.1×10^9 UFC/mL) obtenu dans les boues, se retrouvent lorsque 1 g/L de sulfate d'ammonium est ajouté (Annexe C). Cependant, en ce qui à trait au résultat d'entomototoxicité le plus élevé (10 566 UI/ μ L), on le retrouve lorsqu'il n'y a pas de sulfate d'ammonium ajouté dans les boues. Pour ce qui est des valeurs minimums de cellules (8.6×10^8 UFC/mL) et de spores (6.3×10^8 UFC/mL), elles sont obtenues lorsqu'aucun ajout de sulfate d'ammonium n'est effectué. Pour ce qui est de la valeur minimale d'entomototoxicité (6 807 UI/ μ L), elle est retrouvée lorsque 2 g/L de sulfate d'ammonium est ajouté à des boues secondaires non hydrolysées.

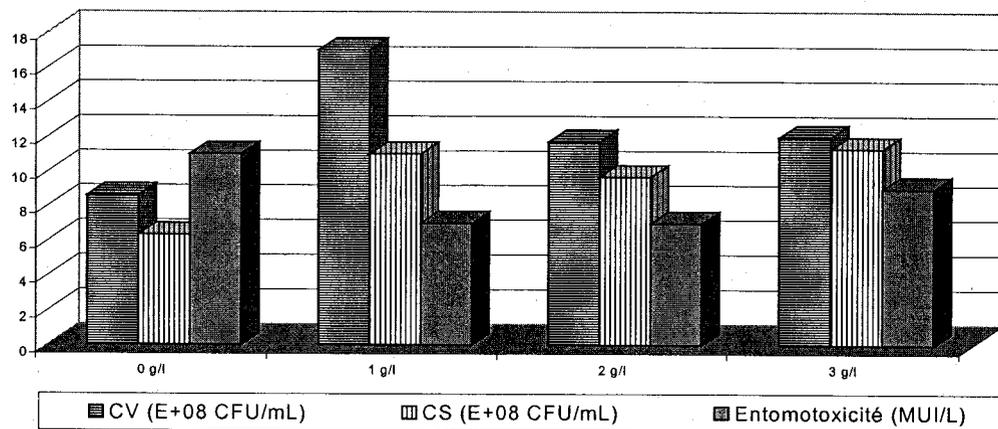


Figure 3.2.6. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations en sulfate d'ammonium.

La Figure 3.2.7 représente les nombres maximaux de cellules, de spores et d'entomotoxicité retrouvés dans des boues secondaires de la CUQ, mais cette fois-ci, dans des boues à 35 g/L préalablement hydrolysées et auxquelles ont été ajoutées différentes concentrations de sulfate d'ammonium. On remarque, que les valeurs les plus faibles quant aux nombres nombre de cellules (3.5×10^9 UFC/mL) et de spores (2.8×10^9 UFC/mL), sont retrouvées lorsqu'aucune quantité de sulfates d'ammonium n'est ajoutée aux boues (Annexe C). Par contre, c'est le cas contraire pour le potentiel entomotoxique, qui est le plus élevé (14 113 UI/ μ L) sans ajout de cette source d'azote. Les maximums quant aux nombres de cellules (8.3×10^9 UFC/mL) et de spores (7.2×10^9 UFC/mL) sont rapportés lorsque 2 g/L de sulfate d'ammonium sont ajoutés aux boues. Pour ce qui est du résultat d'entomotoxicité qui a été identifié comme étant le plus faible (9 615 UI/ μ L), on le retrouve suite à l'ajout de 3 g/L de sulfate d'ammonium.

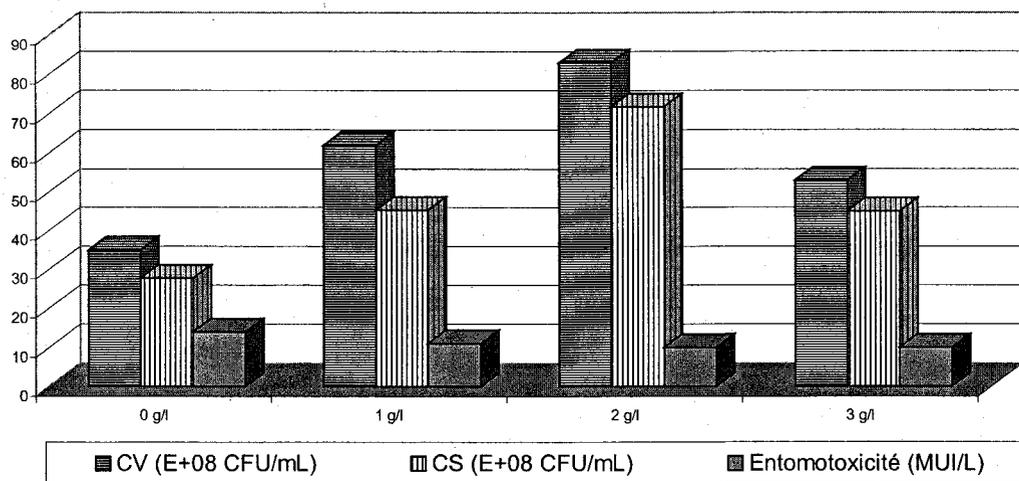


Figure 3.2.7. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium.

Tableau 3.8 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (29 août 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	20
Solides volatils	10
Solides en suspension	14
PH	5,4
Paramètres chimiques	
C (%)	35
N (%)	4
N-NH ₃ (mg/kg)	731
N-NO ₂ +NO ₃ (mg/kg)	16
P-total (mg/kg)	11 900
Métaux	
Al	14 300
Ca	18 700
Cd	3
Cr	78
Cu	242
Fe	13 400
K	2 100
Pb	75
Zn	522

Tableau 3.9 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de sulfate d'ammonium.

Échantillons	Cellules max (10 ⁸ UFC/mL)	Spores max (10 ⁸ UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/μL)
1 g/L sulf. amm. NH*	17.0	11.0	6 881
2 g/L sulf. amm. NH	15.7	9.87	6 807
3 g/L sulf. amm. NH	12.0	11.3	8 627
1 g/L sulf. amm. H*	95.3	45.3	11 434
2 g/L sulf. amm. H	83.0	71.7	10 114
3 g/L sulf. amm. H	53.0	45.0	9 515

*NH : Boues de la CUQ non hydrolysées.

*H : Boues de la CUQ hydrolysées.

3.2.3.2. Discussion

Bien que le sulfate d'ammonium soit une source d'azote tout comme le sont les boues et les extraits de levures, nous ne devrions pas arriver aux mêmes résultats de comptes de cellules et de spores de même que d'entomotoxicité dans des boues enrichies avec du (NH₄)₂SO₄. Yang et al., (1998) ont décelé une baisse du nombre de cellules et de spores de même que du potentiel entomotoxique, lors de l'ajout d'une source d'azote inorganique tel que le sulfate d'ammonium.

En ce qui à trait aux comptes des cellules et des spores, on remarque une hausse générale, que ce soit dans les boues non hydrolysées ou dans les boues hydrolysées lors de l'ajout du sulfate d'ammonium en début de fermentation. En effet, on note des augmentations du nombre des cellules de 1 à 2 fois dans les boues non hydrolysées et de 2 fois dans les boues hydrolysées. Pour ce qui est des spores, il y eu des hausses de 2 fois dans les boues non hydrolysées et de 2 à 3 fois dans les boues préalablement hydrolysées.

Il est possible d'attribuer ces hausses au fait que le sulfate d'ammonium est une source d'azote inorganique difficile à métaboliser par *Bt*. Pour contrer ce problème de disponibilité des éléments, les bactéries utilisent d'autres sources plus facilement assimilables retrouvées dans le milieu. Cela aura comme conséquence de permettre une croissance cellulaire de même que la sporulation.

Dans le cas de l'entomotoxicité, on remarque des baisses allant de 18 à 36 % dans les boues non hydrolysées et de 19 à 32 % dans les boues hydrolysées. Ces diminutions du potentiel entomotoxique suite à l'ajout de sulfate d'ammonium dans les boues sont encore une fois attribuables à la disponibilité des éléments. En effet, comme l'ont démontré Zouari et Jaoua (1999), l'utilisation du sulfate d'ammonium comme source d'azote n'améliore pas le taux de synthèse des cristaux protéiques, puisque la composition de la source d'azote employée affecte la croissance de la bactérie et par le fait même la synthèse des gènes Cry responsable de l'entomotoxicité.

3.2.4. Glucose et sulfate d'ammonium

3.2.4.1. Résultats

La Figure 3.2.8 représente les valeurs maximales obtenues de cellules, de spores et d'entomotoxicité dans des boues de la CUQ non hydrolysées à 25 g/L, suite à l'ajout des concentrations de glucose et de sulfate d'ammonium qui ont donné les meilleurs résultats lors des expériences précédentes. À noter que l'ajout du sulfate d'ammonium a été testé à deux différents temps, soit : à 0h. et à 12h. Pour ce qui est des valeurs les plus élevées quant aux cellules (3.4×10^8 UFC/mL) et aux spores (1.3×10^8 UFC/mL), elles ont été obtenues lors de l'ajout, au temps 0h., de 1 g/L de glucose et de l'ajout de 1 g/L de sulfate d'ammonium après

douze heures de fermentation (annexe D). En ce qui à trait au potentiel entomotoxique le plus fort (8 362 UI/ μ L), il a été observé lorsque le glucose et le sulfate d'ammonium ont été ajoutés simultanément en début de fermentation. Pour ce qui est des résultats les plus faibles quant aux nombres de cellules (2.2×10^8 UFC/mL) et de spores (1.1×10^8 UFC/mL), ont les retrouvent lorsque le glucose et le sulfate d'ammonium sont ajoutés au temps 0h. Le plus faible potentiel entomotoxique (7 224 UI/ μ L) est observé lorsque le sulfate d'ammonium est ajouté après douze heures d'incubation à 30°C.

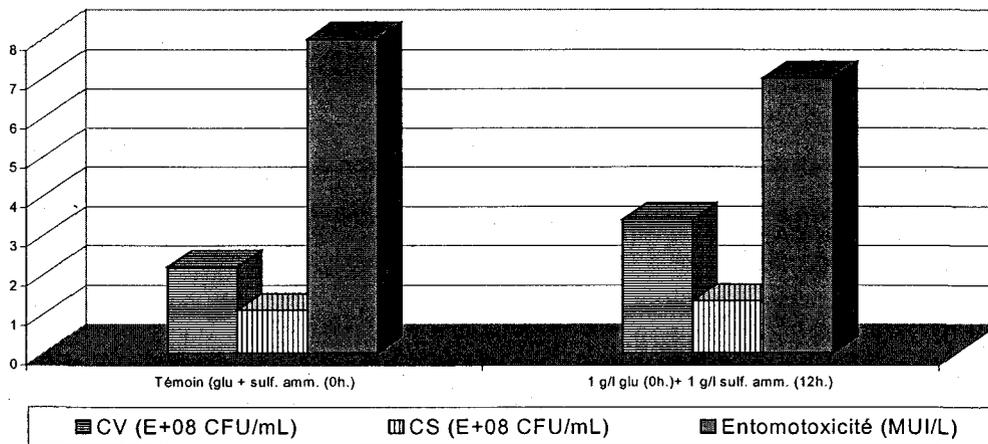


Figure 3.2.8. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de glucose et de sulfate d'ammonium.

La Figure 3.2.9 représente les valeurs maximales de cellules, de spores et de potentiel entomotoxique obtenus suite à l'ajout de 1 g/L de glucose au temps 0h. et de 1 g/l de sulfate d'ammonium aux temps 0h. et 12h., mais dans des boues secondaires hydrolysées de la CUQ à 35 g/L. On peut observer que les meilleurs résultats du nombre de cellules (3×10^8 UFC/mL), du nombre de spores (1.1×10^8 UFC/mL) (annexe D) et d'entomotoxicité (11 214 UI/ μ L) sont retrouvés lorsque le sulfate d'ammonium est ajouté aux boues après 12 heures de fermentation. Pour ce qui est des résultats dits minimaux de compte de cellules (2.9×10^8 UFC/mL), compte de

spores (8.4×10^7 UFC/mL) et d'entomotoxicité (10 084 UI/ μ L) ils ont été obtenus lorsque le glucose et le sulfate d'ammonium sont ajoutés simultanément aux boues en début d'expérimentation.

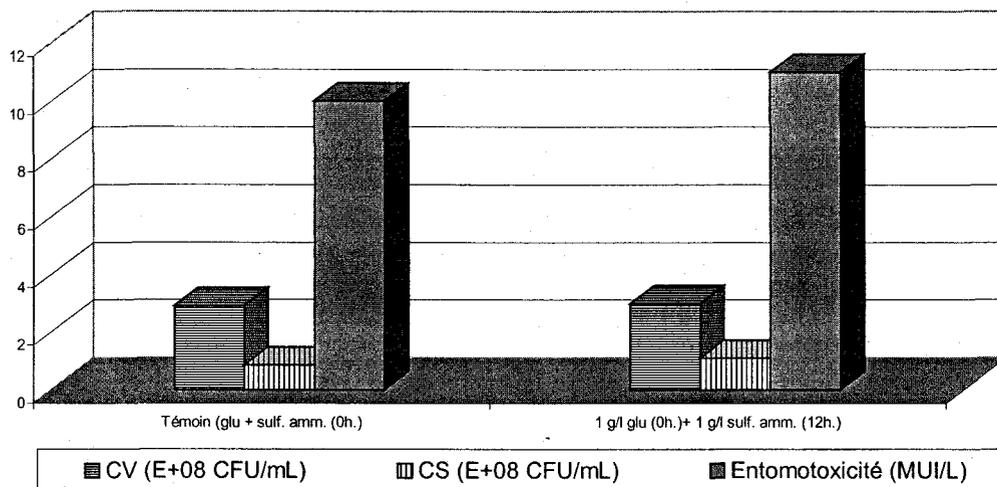


Figure 3.2.9. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/L) de la CUQ avec ajout de glucose et de sulfate d'ammonium.

Tableau 3.10 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (9 septembre 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	20
Solides volatils	9
Solides en suspension	15
PH	5,7
Paramètres chimiques	
C (%)	32
N (%)	9
N-NH3 (mg/kg)	712
N-NO2+NO3 (mg/kg)	24
P-total (mg/kg)	12 500
Métaux	
Al	16 000
Ca	18 300
Cd	3
Cr	51
Cu	245
Fe	13 900
K	1 650
Pb	73
Zn	513

Tableau 3.11 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de sulfate d'ammonium et de glucose.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
1 g/L s. a. (0h) + glu (0h) NH*	1.97	1.1	9 692
1 g/L s. a. (0h) + glu (12h) NH	2.0	0.83	7 556
1 g/L s. a. (0h) + glu (0h) H*	3.4	1.33	10 083
1 g/L s. a. (0h) + glu (12h) H	2.97	1.08	11 214

*NH : Boues de la CUQ non hydrolysées.

*H : Boues de la CUQ hydrolysées.

3.2.4.2. Discussion

Puisque le carbone et l'azote sont des éléments essentiels à *Bacillus thuringiensis*, il est important qu'ils soient tous deux présents dans le milieu servant à la culture de la bactérie. En effet, *Bt* étant un micro-organisme chimiohétérotrophe (Prescott et al., 1995), il utilise majoritairement du carbone durant la phase exponentielle de croissance, mais aussi, tout au long de la durée de la fermentation. Cependant, pour qu'il y ait initiation de la sporulation chez *Bacillus thuringiensis*, il doit y avoir une baisse des sources d'azote disponibles dans le milieu (Yang et Wang 2000). Ainsi, il est probable que si l'on ajoute une source de carbone et d'azote dans le milieu de culture, il y ait un effet positif sur le nombre de cellules, mais négatif sur le nombre de spores de même que sur le potentiel entomotoxique.

Si l'on compare les résultats obtenus lors de l'ajout du glucose en début de fermentation et l'ajout du sulfate d'ammonium après la phase exponentielle, avec les résultats de la fiole témoin, où ces derniers éléments ont été ajoutés tout deux au début de l'expérimentation, on discerne une très légère hausse du nombre de cellules et de spores que ce soit dans les boues hydrolysées ou non.

Dans le cas du potentiel entomotoxique, on note une baisse de 32 % dans les boues non hydrolysées, mais une augmentation de 8 % dans les boues hydrolysées, comparé aux résultats obtenus dans les témoins. Il est possible d'attribuer la hausse de la valeur d'entomotoxicité obtenue dans les boues ayant subi un prétraitement, au fait que l'hydrolyse ait libéré une quantité de nutriments sous une forme complexe, en des éléments plus simples et donc plus facilement assimilables par la bactérie. Ainsi, faisant parti des éléments disponibles, on retrouve entre autres du carbone et de l'azote. Ces deux éléments facilitent et augmentent le taux de synthèse des cristaux protéiques (Tirado-montiel, 1997).

Par contre, dans les boues non hydrolysées, puisqu'aucun traitement préliminaire n'est effectué, on retrouve des concentrations en carbone et en azote beaucoup plus faible que dans les boues hydrolysées. Ces différences de concentrations affectent la disponibilité du carbone et de l'azote dans le milieu, ce qui explique les résultats d'entomotoxicité, de compte de cellules et de spores plus faibles que ceux obtenus dans les boues hydrolysées. Aussi, en dernier lieu, il est important de mentionner que l'utilisation du sulfate d'ammonium comme source d'azote, a certainement affecté les valeurs obtenues, puisqu'il a été démontré que ce dernier n'était pas en mesure de supporter la croissance de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* (Bulla et al., 1980; Arcas, 1984).

3.2.5. Boues hydrolysées mélangées à des boues non hydrolysées

3.2.5.1. Résultats

La Figure 3.2.10 représente les valeurs maximales de compte de cellules, de compte de spores et de potentiel entomotoxique obtenues dans des boues secondaires de la CUQ, selon l'ajout de différents pourcentages de boues hydrolysées à 35 g/L et dans des boues non hydrolysées à 25 g/L. On note que les maximums de cellules (8.6×10^8 UFC/mL) et de spores (6.3×10^8 UFC/mL) ont été observés dans des boues totalement non hydrolysées (annexe E). Cependant, en ce qui à trait au potentiel entomotoxique le plus élevé (12 376 UI/ μ L), on le retrouve lorsque 25 % de boues hydrolysées sont ajoutées aux boues non hydrolysées. Par contre, pour ce qui est des résultats les plus faibles, quant aux nombres de cellules (3.8×10^8 UFC/mL) et de spores (1.4×10^8 UFC/mL), ils sont observés lors de l'ajout de 50 % de boues hydrolysées. Finalement, la

plus faible valeur d'entomotoxicité (10 566 UI/ μ L) a été obtenue dans des boues totalement non hydrolysées.

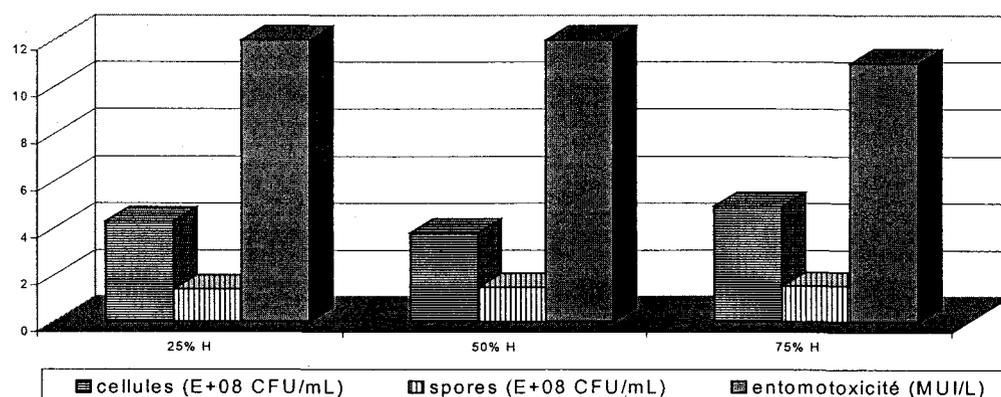


Figure 3.2.10. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées (25 g/L) de la CUQ avec ajout de différents pourcentages de boues secondaires de la CUQ hydrolysées (35 g/L).

Tableau 3.12 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (23 septembre 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	19
Solides volatils	9
Solides en suspension	14
PH	5,8
Paramètres chimiques	
C (%)	30
N (%)	8
N-NH ₃ (mg/kg)	582
N-NO ₂ +NO ₃ (mg/kg)	7
P-total (mg/kg)	14 000
Métaux	
Al	17 600
Ca	17 000
Cd	5
Cr	57
Cu	267
Fe	11 200
K	2 760
Pb	65
Zn	630

Tableau 3.13 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour le mélange de boues hydrolysées et de boues non hydrolysées.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
25% H* / 75% NH*	4.27	1.38	12 376
50% H / 50% NH	3.8	1.46	11 933
75% H / 25% NH	4.93	1.52	10 603

*NH: Boues de la CUQ non hydrolysées.

*H: Boues de la CUQ hydrolysées.

3.2.5.2. Discussion

Les résultats obtenus lors de ces expériences diffèrent grandement de ceux avancés lors de l'élaboration des hypothèses de départ. En effet, normalement les valeurs d'entomotoxicité devraient s'accroître suivant l'augmentation du pourcentage de boues hydrolysées ajouté aux boues non hydrolysées. Il en est de même pour le nombre de cellules et de spores. Ainsi, puisque les résultats obtenus n'obéissent pas aux règles générales observées lors de la culture de *Bacillus thuringiensis* dans les boues hydrolysées, il serait important de refaire les expériences afin de vérifier la crédibilité des résultats obtenus.

3.2.6. Centrifugation vs polymères

3.2.6.1. Résultats

Dans la figure 3.2.11 on retrouve les valeurs maximales de cellules, de spores et de potentiel entomotoxique obtenues dans des boues non hydrolysées épaissies à 30 g/L par la méthode de la centrifugation et par la l'ajout de polymères. On observe les résultats les plus élevés de cellules (2.1×10^{10} UFC/mL) et de spores (1.9×10^{10} UFC/mL) dans les boues épaissies par centrifugation (Annexe F). Les valeurs les plus faibles de cellules (1.5×10^{10} UFC/mL) et de spores (1.1×10^{10} UFC/mL) ont été obtenues dans les boues épaissies par l'ajout de Percol 757. Pour ce qui est du potentiel entomotoxique, il a été identique dans les deux expériences, soit : 11 268 UI/ μ L dans les boues épaissies par centrifugation et dans les boues épaissies à 30 g/l par l'ajout de polymères.

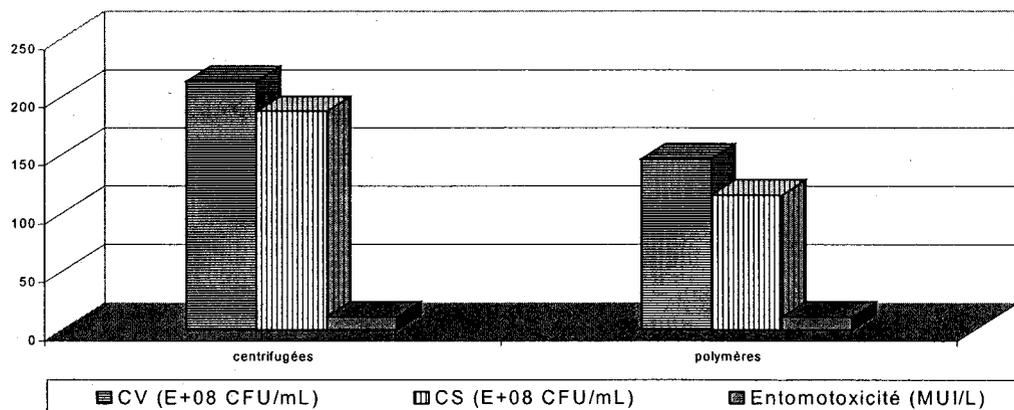


Figure 3.2.11. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de la CUQ épaissie à 30 g/L par la méthode de la centrifugation et par l'ajout de polymères.

Tableau 3.14 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (22 juillet 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	21
Solides volatils	11
Solides en suspension	16
PH	5,5
Paramètres chimiques	
C (%)	43
N (%)	6
N-NH3 (mg/kg)	468
N-NO2+NO3 (mg/kg)	8
P-total (mg/kg)	9 700
Métaux	
Al	13 400
Ca	18 500
Cd	3
Cr	78
Cu	235
Fe	8 710
K	2 030
Pb	69
Zn	441

Tableau 3.15 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les boues épaissies par centrifugation et par l'ajout de polymères.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
Centrifugation NH	213.0	187.0	11 268
Polymères NH	146.0	115.0	11 268

3.2.6.2. Discussion

La déshydratation des boues par l'ajout de polymères est une pratique courante dans plusieurs usines d'épuration des eaux. Cependant, il est possible que les polymères nuisent à la croissance cellulaire de même qu'à la formation des spores et des cristaux. En effet, puisque les particules en suspension, riches en éléments nutritifs essentiels à la bactérie, se trouvent capturées tout autour de la surface du composé chimique (British Columbia ministry of Agriculture, Food and Fisheries, 1994), il est possible que les polymères jouent un rôle dans la disponibilité des éléments.

Cette hypothèse s'avère véridique lorsque l'on observe la Figure 3.2.11. On remarque une augmentation du nombre de cellules d'environ 1,5 fois et de 2 fois pour les spores lorsque les boues utilisées pour la fermentation de *Bt* sont épaissies à 30 g/L par centrifugation. Cependant, il en est autrement lorsqu'on compare les résultats du potentiel entomotoxique, qui sont identiques pour les deux méthodes d'épaississement.

Une entomotoxicité obtenue dans des boues épaissies par des polymères équivalente à celle obtenue dans des boues centrifugées peut s'expliquer par la composition chimique du Percol 757. Ce dernier est composé de plusieurs molécules de carbone et d'azote (Fan et al., 2000), ce qui pourrait avoir un effet positif au niveau de la formation des cristaux protéiques suite à la dégradation des polymères par les bactéries.

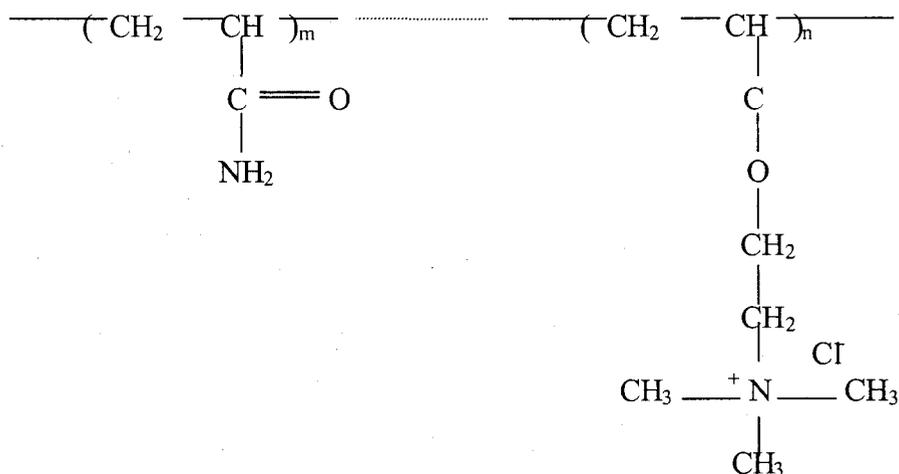


Figure 3.2.12. Structure chimique du Percol

3.2.7. Surnageant des boues

3.2.7.1. Résultats

La Figure 3.2.13 représente les valeurs maximales de cellules, de spores et d'entomotoxicité, obtenues dans le surnageant de boues secondaires hydrolysées à 35 g/L de la CUQ, selon différents types d'hydrolyses. En ce qui à trait aux valeurs les plus élevées quant aux nombres de cellules (2.4×10^{10} UFC/mL) et de spores (2.3×10^{10} UFC/mL), elles sont observées dans le surnageant de boues hydrolysées par un traitement thermique alcalin (Annexe G). En contre parti, les valeurs les plus faibles de cellules (3.3×10^9 UFC/mL) et de spores (1.9×10^9 UFC/mL), sont retrouvées dans le surnageant des boues hydrolysées par un traitement oxydatif. Vu les faibles résultats obtenus sur les boues hydrolysées avec le traitement oxydatif et alcalin (Barnabé, 2000), seul l'échantillon du surnageant issu d'un traitement thermique et alcalin de boues a été réalisé. Un potentiel entomotoxique de l'ordre de 12 672 UI/ μ L a été obtenu.

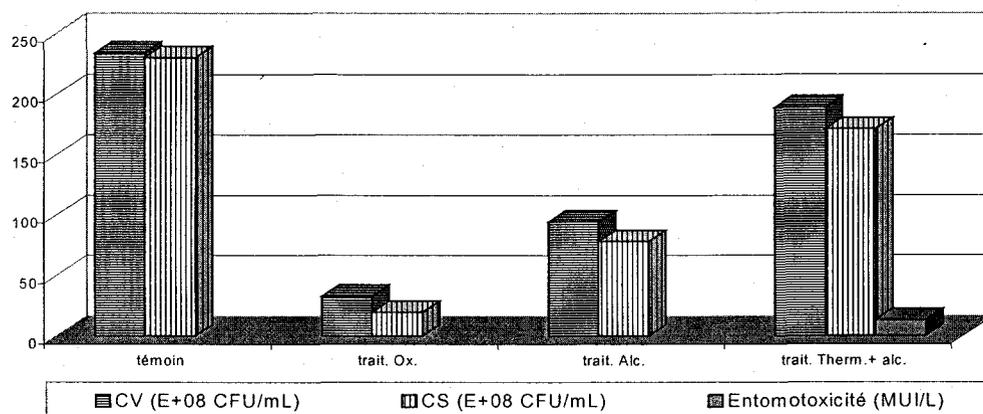


Figure 3.2.13. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans le surnageant des boues secondaires hydrolysées de la CUQ (35 g/L).

Tableau 3.16 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (4 juillet 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	18
Solides volatils	8
Solides en suspension	13
PH	5,6
Paramètres chimiques	
C (%)	29
N (%)	4
N-NH3 (mg/kg)	573
N-NO2+NO3 (mg/kg)	10
P-total (mg/kg)	10 500
Métaux	
Al	15 000
Ca	17 500
Cd	3
Cr	150
Cu	266
Fe	10 900
K	2 200
Pb	81
Zn	606

Tableau 3.17 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour le surnageant des boues hydrolysées.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
Surnageant TTA	1 890.0	1 710.0	12 635

3.2.7.2. Discussion

La valeur d'entomotoxicité obtenue lors de la culture de *Bacillus thuringiensis* dans le surnageant de boues hydrolysées de la CUQ a démontré, comme attendu, une baisse comparativement à la valeur déterminée dans les boues hydrolysées. Cette chute du potentiel entomotoxique s'explique en raison des éléments nutritifs qui sont en concentration moins élevée dans le surnageant. En effet, une grande partie de ces derniers se retrouvent dans le culot et ne sont donc pas disponibles pour la synthèse des cristaux protéiques. Par contre, les résultats de compte de cellules et de spores restent à confirmer.

3.2.8. Tween 80

3.2.8.1. Résultats

La Figure 3.2.14 représente les valeurs maximales de cellules, de spores et de potentiel entomotoxique obtenues dans des boues secondaires non hydrolysées à 25 g/L de la CUQ, suite à l'ajout de différents pourcentages de Tween 80. On remarque que les comptes de cellules (9.3×10^8 UFC/mL) et de spores (8.3×10^8 UFC/mL) les plus élevés ont été obtenus lorsque 0.2 % v/v de Tween 80 a été ajouté aux boues non hydrolysées (Annexe H). Pour ce qui est des valeurs les plus faibles obtenues de cellules (5.7×10^8 UFC/mL) et de spores (4.3×10^8 UFC/mL), elles sont observées lors de l'ajout de 0.4 % v/v de Tween 80 dans les boues. En ce qui à trait aux valeurs minimales et maximales d'entomotoxicité obtenues suite à l'ajout de Tween 80 dans les boues, on retrouve comme valeur la plus faible, 10 566 UI/ μ L lorsqu'aucune quantité de surfactant n'est ajouté et comme valeur la plus élevée, 17 386 UI/ μ L suite à l'ajout de 0.1 % de Tween 80.

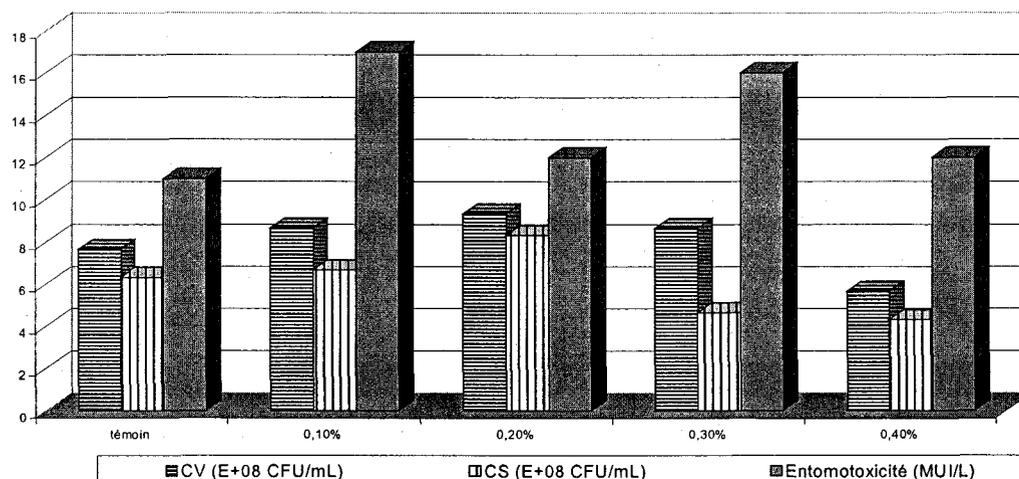


Figure 3.2.14. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de la CUQ (25 g/L) selon l'ajout de différents pourcentages de Tween 80.

Pour ce qui est de la Figure 3.2.15, elle représente les valeurs maximales de cellules, de spores et d'entomotoxicité obtenues suite à l'ajout de différents pourcentages de Tween 80, mais cette fois-ci, dans des boues secondaires de la CUQ hydrolysées à 35 g/L. On retrouve les valeurs des nombres de cellules (6.0×10^8 UFC/mL) et de spores (4.7×10^8 UFC/mL) les plus faibles, lors de l'ajout de 0.4 % v/v de Tween 80 (Annexe H). Pour ce qui est du potentiel entomotoxique le plus faible (10 084 UI/ μ L), il a été obtenu suite à l'ajout de 0.2 % v/v de l'agent tensio-actif. En ce qui a trait aux valeurs les plus élevées des comptes de cellules (8.3×10^8 UFC/mL) et de spores (7.0×10^8 UFC/mL), elles ont été obtenues lors de l'ajout de 0.1 % v/v de Tween 80 dans des boues hydrolysées. Par contre, la valeur la plus élevée d'entomotoxicité (17 733 UI/ μ L) a été retrouvée suite à l'ajout de 0.4 % v/v de Tween 80.

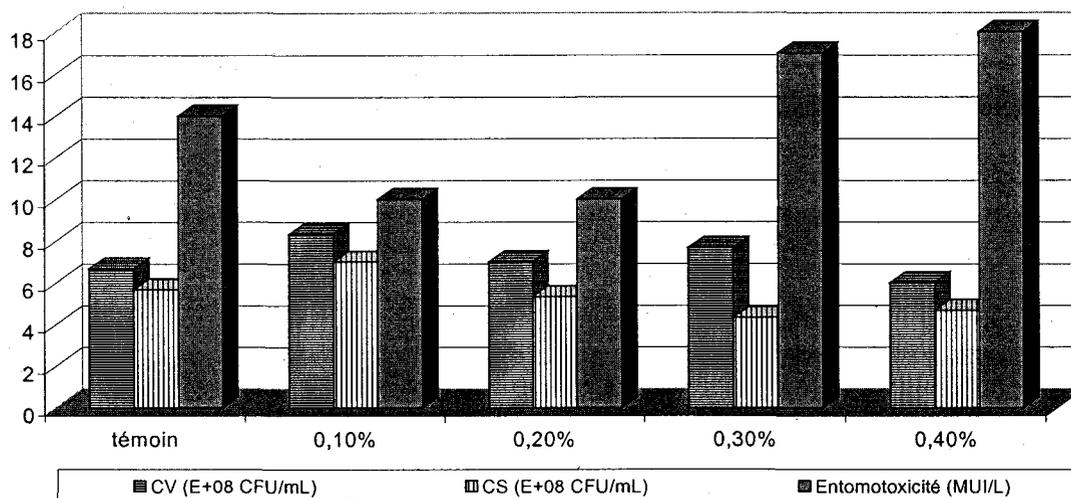


Figure 3.2.15. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires hydrolysées de la CUQ (35 g/L) selon l'ajout de différents pourcentages de Tween 80.

Tableau 3.18 Caractéristiques physico-chimiques des boues secondaires de la CUQ (30 septembre 2002).

Paramètres physiques	(g/L)
Solides totaux	18
Solides volatils	8
Solides en suspension	13
PH	5,8
Paramètres chimiques	
C (%)	27
N (%)	7
N-NH3 (mg/kg)	675
N-NO2+NO3 (mg/kg)	9
P-total (mg/kg)	13 400
Métaux	
Al	15 400
Ca	18 200
Cd	6
Cr	65
Cu	243
Fe	9 800
K	1 780
Pb	67
Zn	543

Tableau 3.19 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité pour les ajouts de Tween 80.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
0.1% Tween 80 NH*	8.67	6.67	17 386
0.2% Tween 80 NH°	9.33	8.33	12 039
0.3% Tween 80 NH	9.33	4.67	15 908
0.4% Tween 80 NH	5.67	4.33	12 083
0.1% Tween 80 H*	8.33	7.0	10 431
0.2% Tween 80 H	7.0	5.33	10 083
0.3% Tween 80 H	5.33	4.0	16 647
0.4% Tween 80 H	6.0	4.67	17 733

*NH : Boues de la CUQ non hydrolysées.

*H : Boues de la CUQ hydrolysées.

° Ces résultats restent à justifier voir même à refaire.

3.1.8.2. Discussion

Le Tween 80 est un agent tensio-actif. Il facilite le transport des nutriments et de l'oxygène à l'intérieur des cellules bactériennes, en perméabilisant la membrane cellulaire (Zouari et al., 1999). Ainsi, suite à l'ajout de Tween 80 dans les boues, il devrait en résulter un effet positif sur la croissance bactérienne de même que sur la sporulation et l'entomotoxicité.

Cependant, on ne remarque pas de hausse significative importante des comptes de cellules et de spores lors des fermentations de *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* dans les boues hydrolysées et non hydrolysées avec ajout de surfactant.

Il est possible qu'une grande partie de la réponse à cette interrogation se retrouve dans le fait que les expérimentations se sont déroulées dans des fioles de 500mL. En effet, la culture de *Bt* en fioles est une étape préliminaire qui permet la détermination des paramètres et des conditions optimales de fermentation. Lorsque ceux-ci sont trouvés, il y a passage en fermenteurs de 15 L, où des paramètres comme le pH, l'aération et l'agitation sont contrôlés. Dans de telles conditions, il est probable d'observer de plus grands écarts quant aux nombres de cellules et de spores retrouvés dans les boues, ce qui permettrait de mieux apprécier les effets du Tween 80 sur la croissance et la sporulation.

Par contre, en ce qui à trait au potentiel entomotoxique des cristaux protéiques, on remarque une grande amélioration suite à l'ajout du surfactant dans les boues, malgré le fait que les fermentations soient réalisées en fioles de 500 mL.

Il est possible que le Tween 80 ait eu un effet au niveau des caractéristiques des cristaux protéiques (Vidyarthi et al., 2001). En effet, il a été démontré que la composition du milieu de culture avait un effet sur la production et la morphologie des cristaux protéiques (Perani et al., 2000). L'ajout de Tween 80 dans les boues aurait permis une meilleure assimilation des nutriments suite à une amélioration de la perméabilité membranaire. Morries et al. (1996) ont montré que l'augmentation de la solubilité des nutriments améliore la toxicité de *Bt*.

Dans les Figures 3.2.14 et 3.2.15 on remarque une hausse de l'entomotoxicité jusqu'à un optimum de concentration de Tween 80. Au-delà de cette concentration, il est possible que le Tween devienne toxique pour la croissance de *Bacillus thuringiensis*.

3.2.9. Boues de Jonquière

3.2.9.1. Résultats

On retrouve dans la Figure 3.2.16 les valeurs maximales de compte de cellules, de spores et de potentiel entomotoxique obtenues dans des boues secondaires de Jonquière non hydrolysées selon différentes concentrations en matières en suspension. La valeur minimale quant aux nombres de cellules (6.7×10^8 UFC/mL) dans les boues est obtenue lorsque l'on utilise 35 g/L de MES. Pour ce qui est du nombre de spores le plus faible (2.7×10^8 UFC/mL), il a été observé dans des boues concentrées à 25 g/L (Annexe I). C'est dans des boues de Jonquière à 20 g/L qu'a été obtenu l'entomotoxicité la plus faible, soit : 9 033 UI/ μ L. Pour ce qui est du meilleur résultat de compte de cellules (2.1×10^9 UFC/mL), il a été observé dans des boues concentrées à 25 g/L. 4.3×10^8 UFC/mL est la valeur maximale de compte de spores retrouvée dans des boues à 30 et 35 g/L. Pour ce qui est du potentiel entomotoxique maximum (10 806 UI/ μ L), il a été obtenu dans des boues de Jonquière concentrées à 35 g/L.

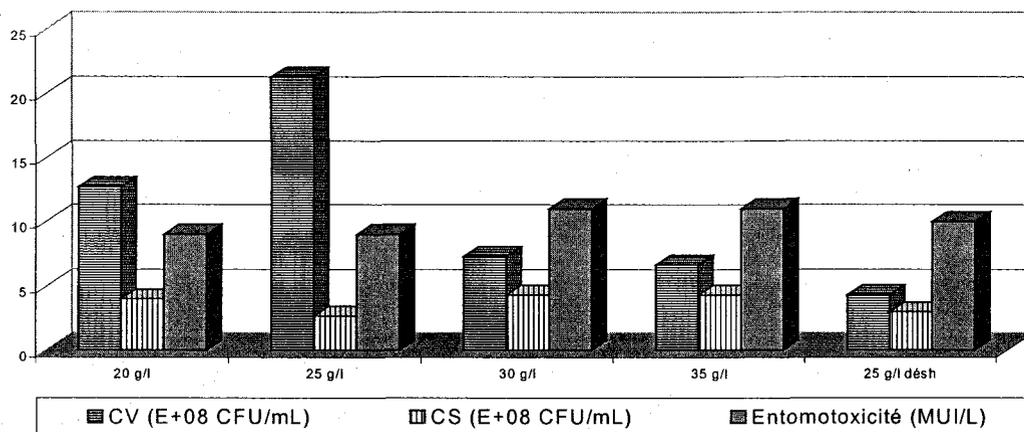


Figure 3.2.16. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues secondaires non hydrolysées de Jonquière selon différentes concentrations en solides.

Tableau 3.20 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité obtenues dans des boues de Jonquière.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
20 g/L Jonq. NH*	12.7	4.0	9 033
25 g/L Jonq. NH	21.3	2.67	9 144
30 g/L Jonq. NH	7.33	4.33	10 585
35 g/L Jonq. NH	6.67	4.33	10 806
25 g/L déshy. NH°	4.33	3.0	9 698

*NH : Boues secondaires de Jonquière non hydrolysée.

°NH : Boues déshydratées de Jonquière non hydrolysée

3.2.9.2. Discussion

L'utilisation des boues secondaires de Jonquière pour la fermentation de *Bt* vise à comparer les résultats quant à la croissance, la sporulation et l'entomotoxicité entre deux types de boues, soit : les boues activées (Jonquière) et les boues obtenues suite à une biofiltration (CUQ). En plus, comme les boues de Jonquière possèdent une valeur en matières en suspension qui demeure constante à 20 g/L, l'utilisation de ces dernières réduirait considérablement le temps consacré à l'épaississement des boues à 25 g/L dans le cas des boues non hydrolysées et 35 g/L pour les boues hydrolysées (Vidyarthi et al., 2002). Parce que les boues sont issues de deux méthodes de

traitements biologiques des eaux, nous devrions nous attendre à obtenir des résultats de cellules, de spores et d'entomotoxicité dans les mêmes ordres que ceux obtenus lors des fermentations dans les boues secondaires de la CUQ.

En ce qui concerne les résultats obtenus quant aux nombres de cellules dans les boues, on remarque une augmentation de près de 3 fois lorsque les boues de Jonquière à 25 g/L sont utilisées pour la fermentation comparativement aux résultats obtenus avec les boues secondaires de la CUQ à 25 g/L. Cependant, il y a diminution de 2 fois le nombre de spores obtenus dans ces mêmes boues, en comparaison avec celles de la CUQ.

En ce qui à trait aux autres concentrations en matières en suspension, il est difficile de faire un parallèle avec les boues de la CUQ, puisque les expérimentations effectuées avec ces boues non hydrolysées n'ont été réalisées qu'à 25 g/L. Par contre, comme nous nous y attendions, on remarque une baisse générale des cellules et des spores suivant l'augmentation de la concentration en solides dans les boues non hydrolysées.

L'explication des différences observées dans les boues de Jonquière comparativement aux boues de la CUQ, pourrait être applicable au fait que ce ne sont pas les mêmes organismes qui sont utilisés dans les deux procédés. Cela peut avoir un impact sur les produits de transformation et ainsi, sur la composition des boues (Tableaux 3.1 et 3.2). En effet, si l'on fait référence aux analyses des boues de Jonquière et celles de la CUQ, on s'aperçoit qu'elles diffèrent dans leur composition à cause du mode du traitement et de la nature des eaux usées (Tirado-Montiel et al., 2001).

En ce qui concerne l'entomotoxicité, on retrouve des valeurs similaires lors de l'utilisation de 30 et 35 g/L de solides. Cependant, à 20 et 25 g/L, on note une diminution d'environ 15 %. Cette divergence est encore une fois attribuable à la composition différente des deux types de boues. Il est possible d'effectuer une comparaison entre les boues secondaires de Jonquière et les boues déshydratées de Jonquière non hydrolysée. Comme on le remarque sur la Figure 8.9.1, le nombre de spores demeure semblable dans les deux cas. Toutefois, il y a une baisse d'environ 5 fois le nombre de cellules dans les boues déshydratées à 25 g/L non hydrolysés. Cette baisse est explicable par la diminution des nutriments dans les boues représentée par un faible ratio

volatiles/solides totaux (Vidyarthi et al., 2002). Par contre, on remarque une hausse de 6 % de l'entomotoxicité dans les boues déshydratées, qui peut être attribuable à une hausse de toxicité du produit de fermentation en raison des polymères présents en grande quantité dans ces boues.

3.2.10. Boues de Jonquière déshydratées

3.2.10.1. Résultats

La Figure 3.2.17 représente les valeurs maximales de comptes cellulaires et de spores de même que d'entomotoxicité obtenues dans des boues de Jonquière déshydratées hydrolysées, selon différentes concentrations en solides dans les boues. On remarque que les résultats quant aux nombres de cellules (3.3×10^8 UFC/mL), de spores (3.0×10^8 UFC/mL) (Annexe J) et d'entomotoxicité (9 033 UI/ μ L) les plus faibles sont obtenus dans des boues contenant 20 g/l de matières en suspension. Pour ce qui est des valeurs les plus élevées de cellules (5.0×10^8 UFC/mL) et de potentiel entomotoxique (10 806 UI/ μ L), elles ont été obtenues dans des boues à 35 g/L. Dans le cas des spores, la valeur maximale (3.7×10^8 UFC/mL) a été obtenue dans des boues déshydratées concentrées à 30 g/L.

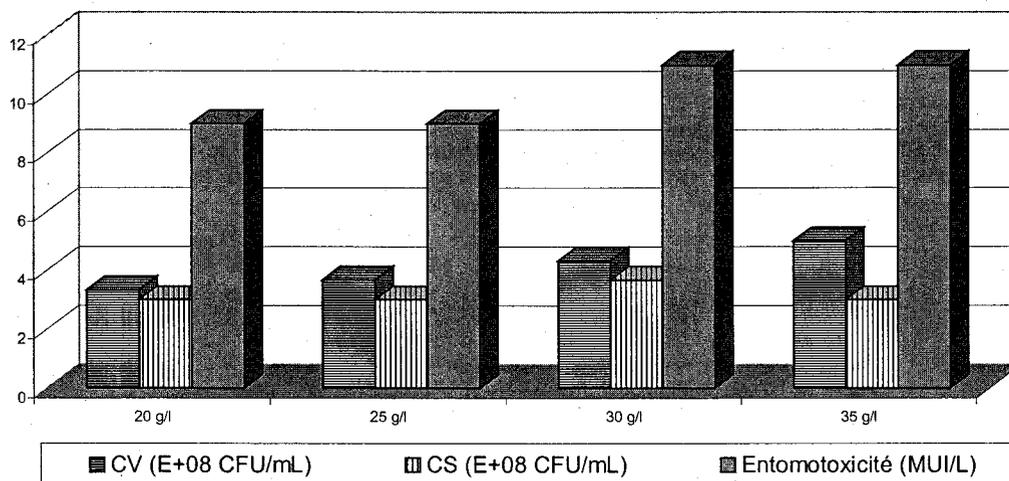


Figure 3.2.17. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans des boues déshydratées de Jonquière hydrolysées selon différentes concentrations en solides.

Tableau 3.21 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité obtenues dans des boues déshydratées de Jonquière.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
20 g/L déshy. H*	3.33	2.3	4 932
25 g/L déshy. H	3.33	3.07	7 315
30 g/L déshy. H	4.33	2.8	11 638
35 g/L déshy. H	5.0	3.0	10 474

*H : Boues déshydratées de Jonquière hydrolysées.

3.2.10.2. Discussion

L'utilisation des boues déshydratées pour la culture de *Bt* ne devrait pas donner de meilleurs résultats que ceux obtenus dans des boues secondaires de la CUQ. En effet, les boues déshydratées contiennent beaucoup de polymères. Ces derniers saisissent une grande partie des nutriments présents dans les boues, ce qui diminue grandement la portion libre d'éléments nutritifs assimilables par la bactérie dans le milieu de culture (Fan et al., 2000). Pour cette raison, il est probable que les comptes de cellules et de spores de même que les résultats de potentiel entomotoxique soient diminués en comparaison avec les valeurs trouvées dans les boues de la CUQ.

En effet, comme le démontre la figure 3.2.17, il y a une diminution de 7 fois du nombre de cellules et de 8 fois du nombre de spores. En ce qui a trait à l'entomotoxicité, on note une baisse d'environ 23 % en comparaison avec la valeur trouvée dans des boues secondaires de la CUQ hydrolysées à 35 g/L.

De plus, comme attendu, on remarque une hausse du nombre de cellules, de spores et de potentiel entomotoxique suivant l'augmentation des matières en suspension dans les boues hydrolysées.

L'explication à l'augmentation de l'entomotoxicité suivant la hausse en concentrations de solides dans les boues est la présence de polymères. En effet, ces derniers peuvent influencer le potentiel entomotoxique en raison de leur toxicité possible démontrée envers les larves de la tordeuse des bourgeons de l'épinette, ce qui peut conduire à une hausse des valeurs d'entomotoxicité mesurées. De plus, il est important de mentionner qu'il existe une corrélation entre la

concentration en polluants non biologiques et la teneur en matières sèches dans les boues (Guide canadien d'évaluation des incidences sur la santé, 1999). Ainsi, il est aussi possible d'attribuer cette hausse d'entomotoxicité à l'utilisation des boues déshydratées, qui sont très riches en matières sèches.

3.2.11. Boues secondaires de Jonquière mélangées à des boues déshydratées

3.2.11.1. Résultats

La Figure 3.2.18 montre les nombres de cellules, de spores et d'entomotoxicité maximums obtenus dans un mélange hydrolysé de boues déshydratées et de boues secondaires de Jonquière selon différentes concentrations en matières en suspension. Les valeurs les plus faibles de comptes de cellules (7.7×10^7 UFC/mL) et de spores (3.3×10^7 UFC/mL) sont obtenues dans des boues concentrées à 35 g/L (Annexe K). Cependant, en ce qui a trait au potentiel entomotoxique le plus faible (4 600 UI/ μ L), il a été trouvé dans des boues hydrolysées à 25 g/L. Par contre, les valeurs maximales de cellules (3.1×10^9 UFC/mL) et de spores (4.7×10^8 UFC/mL) sont atteintes dans des boues à 25 g/L. Dans le cas du meilleur potentiel entomotoxique (9 310 UI/ μ L), il a été obtenu dans un mélange de boues hydrolysées à 20 g/L.

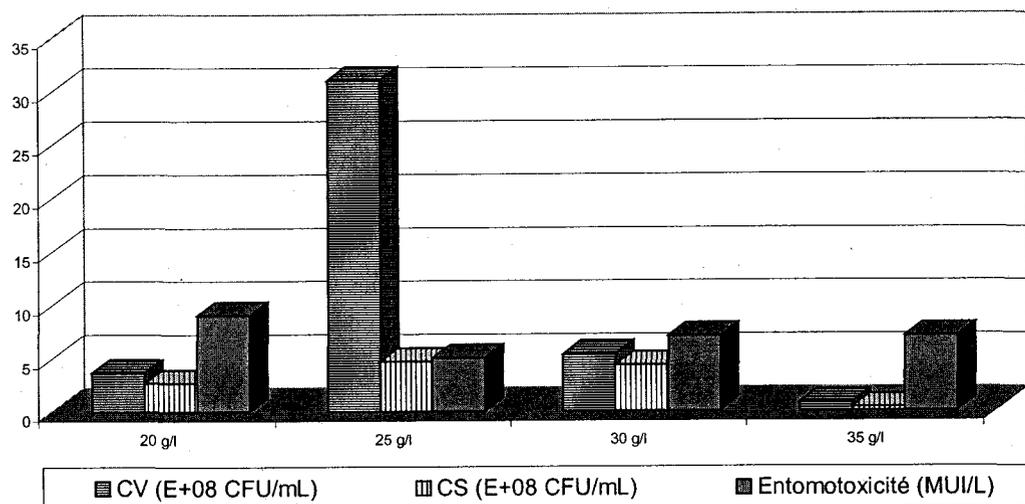


Figure 3.2.18. Maximums des cellules viables (CV), compte de spores (CS) et d'entomotoxicité (ET) obtenus dans un mélange hydrolysé de boues déshydratées et de boues secondaires de Jonquière hydrolysées selon différentes concentrations en solides.

Tableau 3.22 Valeurs maximales de cellules, de spores et de résultats d'entomotoxicité obtenus dans le mélange de boues secondaires de Jonquière et de boues déshydratées de Jonquière.

Échantillons	Cellules max (10^8 UFC/mL)	Spores max (10^8 UFC/mL)	Entomotoxicité (UI/ μ L)
20 g/L Jonq+désh H*	3.67	2.67	9 310
25 g/L Jonq+désh H	31.0	2.13	4 300
30 g/L Jonq+désh H	5.33	4.33	6 816
35 g/L Jonq+désh H	0.77	0.77	6 650

*H : Mélange de boues secondaires et déshydratées de Jonquière hydrolysées.

3.2.11.2. Discussion

Il a été supposé que l'entomotoxicité augmentait en fonction de la concentration en matières en suspension dans les boues hydrolysées, jusqu'à un optimum de 35 g/L (Barnabé, 2001). Cependant, comme démontré dans le Tableau 3.14, on retrouve le maximum de potentiel entomotoxique à 20 g/L. De plus, il y a décroissance de la toxicité suivant la concentration en

MES, ce qui est contraire aux hypothèses préalablement posées. Il en est de même pour le nombre de cellules et de spores, qui dans des boues hydrolysées, se devrait normalement d'augmenter jusqu'à la concentration de 35 g/L de matières en suspension.

Tableau 3.23 Résultats de potentiel entomotoxique à 36 et 48 heures pour l'ensemble des expériences par ordre de décroissance.

ÉCHANTILLONS	ENTOMOTOXICITÉ (UI/ui)
0,4% Tween 80 H 48h.	17 733
0,1 % Tween 80 NH 48h.	17 386
0,3% Tween 80 H 48h.	16 647
0,3 % Tween 80 NH 48h.	15 908
1 g/L boues levures H 48h.	15 295
témoin H 48h.	14 963
1 g/l extrait de levures H 48h.	14 647
1 g/l glucose NH 48h.	14 367
2 g/L boues levures H 48h.	14 297
2 g/l glucose NH 48h.	13 636
2 g/l glucose H 48h.	13 633
1 g/L boues levures H 36h.	13 596
3 g/l glucose H 48h.	13 522
2 g/L boues levures NH 36h.	13 485
2 g/L boues levures H 36h.	13 326
1 g/l extrait de levures H 36h.	13 170
1 g/L boues levures NH 36h.	12 746
1 g/l glucose H 48h.	12 723
trait. Thermique alcalin surnageant 48h.	12 635
25% H / 75% NH 48h.	12 376
3 g/l glucose NH 48h.	12 232
0,4 % Tween 80 NH 48h.	12 083
0,2 % Tween 80 NH 48h.	12 039
2 g/L boues levures NH 48h.	11 970
50% H / 50% NH 36h.	11 933
50% H / 50% NH 48h.	11 859
1 g/l glucose H 36h.	11 785
1 g/L boues levures NH 48h.	11 638
30 g/l boues déshydratées H 48h.	11 638
1 g/l sulf. amm. H 48h.	11 434
2 g/l glucose H 36h.	11 416
centrifugées NH 48h.	11 305
1 g/l sulf.amm (temps 0h)+1 g/l glu (temps 12h) H 48h.	11 214
trait. Thermique alcalin surnageant 36h.	11 194
1 g/l extrait de levures NH 48h.	11 083
35 g/l boues Jonquièrè NH 48h.	10 806
3 g/l glucose H 36h.	10 788
1 g/l glucose NH 36h.	10 677
polymères NH 48h.	10 640
75% H / 25% NH 48h.	10 603
30 g/l boues Jonquièrè NH 48h.	10 585
témoin NH 36h.	10 566
35 g/l boues déshydratées H 48h.	10 474
0,1% Tween 80 H 48h.	10 431
polymères NH 36h.	10 234
2 g/l sulf. amm. H 48h.	10 114
1 g/l sulf.amm+1 g/l glu (temps 0h) H 48h.	10 083
0,2% Tween 80 H 48h.	10 083
2 g/l sulf. amm. H 36h.	9 947
1 g/l sulf.amm (temps 0h)+1 g/l glu (temps 12h) H 36h.	9 853
25 g/l boues déshydratées NH 48h.	9 698
1 g/l sulf.amm+1 g/l glu (temps 0h) NH 48h.	9 692
35 g/l boues Jonquièrè NH 36h.	9 645
1 g/l extrait de levures NH 36h.	9 543

3 g/l sulf. amm. H 48h.	9 515
35 g/l boues déshydratées H 36h.	9 476
témoin NH 48h.	9 377
20 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 48h.	9 310
0,2% Tween 80 H 36h.	9 282
25 g/l boues Jonquièrè NH 48h.	9 144
20 g/l boues Jonquièrè NH 48h.	9 033
1 g/l sulf.amm+1 g/l glu (temps 0h) H 36h.	9 027
30 g/l boues Jonquièrè NH 36h.	8 978
25% H / 75% NH 36h.	8 941
0,3 % Tween 80 NH 36h.	8 802
3 g/l sulf. amm. NH 48h.	8 627
0,2 % Tween 80 NH 36h.	8 470
1 g/l sulf. amm. H 36h.	8 211
3 g/l glucose NH 36h.	8 202
0,1% Tween 80 H 36h.	8 045
0,1 % Tween 80 NH 36h.	7 952
30 g/l boues déshydratées H 36h.	7 814
3 g/l sulf. amm. H 36h.	7 805
témoin H 36h.	7 758
0,3% Tween 80 H 36h.	7 721
3 g/l sulf. amm. NH 36h.	7 638
1 g/l sulf.amm (temps 0h)+1 g/l glu (temps 12h) NH 36h.	7 556
20 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 36h.	7 426
25 g/l boues déshydratées H 48h.	7 315
2 g/l glucose NH 36h.	7 241
25 g/l boues Jonquièrè NH 36h.	7 204
75% H / 25% NH 36h.	7 167
20 g/l boues Jonquièrè NH 36h.	7 093
0,4 % Tween 80 NH 36h.	6 973
1 g/l sulf. amm. NH 48h.	6 881
1 g/l sulf. amm. NH 36h.	6 872
centrifugées NH 36h.	6 835
30 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 48h.	6 816
2 g/l sulf. amm. NH 48h.	6 807
1 g/l sulf.amm (temps 0h)+1 g/l glu (temps 12h) NH 48h.	6 759
35 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 48h.	6 650
25 g/l boues déshydratées H 36h.	6 595
2 g/l sulf. amm. NH 36h.	6 465
0,4% Tween 80 H 36h.	6 465
30 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 36h.	6 096
25 g/l boues déshydratées NH 36h.	5 930
35 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 36h.	5 930
1 g/l sulf.amm+1 g/l glu (temps 0h) NH 36h.	5 850
20 g/l boues déshydratées H 48h.	4 932
20 g/l boues déshydratées H 36h.	4 544
25 g/l boues déshydratées+Jonquièrè H 48h.	4 300
25 g/l boues déshydratées+Jonquièrès H 36h.	4 267

CHAPITRE IV : Conclusions et Recommandations

CHAPITRE 4 – CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS

Comme démontré dans des études antérieures, il est possible de cultiver *Bacillus thuringiensis* dans les boues d'épuration, puisqu'elles suffisent aux besoins énergétiques de la bactérie. Toutefois, d'autres travaux d'optimisation, surtout au niveau du milieu de culture, s'avèrent indispensables pour atteindre les meilleurs potentiels d'entomotoxicité et pouvoir concurrencer les insecticides commerciaux. Différentes expérimentations ont été effectuées afin d'augmenter le potentiel entomotoxique de *Bt* cultivé dans les boues d'épuration d'origine municipale. Pour ce faire, l'ajout de certains éléments à des boues hydrolysées ou non a été testé afin de vérifier leurs influences sur la croissance, la sporulation et le potentiel entomotoxique de la bactérie. Certaines stratégies ont donné des résultats forts encourageants et d'autres ont confirmé des résultats relatés dans la littérature.

En premier lieu, les résultats de comptes de cellules et de spores de même que l'entomotoxicité ont été supérieurs dans les boues prétraitées, et ce, pour l'ensemble des expérimentations. Puisque l'hydrolyse des boues permet une augmentation considérable du potentiel entomotoxique du biopesticide suite à la libération de matières plus assimilables par la bactérie, il serait intéressant de refaire les expériences qui ont présenté les meilleurs entomotoxicités, à plus grande échelle, soit en fermenteur de 15L. Ainsi, il serait possible d'obtenir des résultats pouvant se comparer à ceux de l'industrie.

L'ajout de glucose comme source de carbone dans des boues non hydrolysées de la CUQ a permis une augmentation du potentiel entomotoxique du biopesticide, passant de 10 566 UI/ μ L à 12 376 UI/ μ L avec l'ajout de 2 g/L de glucose. En ce qui a trait au compte de cellules et de spores, on observe une augmentation suivant la concentration de glucose ajoutée aux boues, jusqu'à l'atteinte d'un maximum du nombre de cellules de 23.3×10^8 UFC/mL et du nombre de spores de 19.1×10^8 UFC/mL obtenu suite à l'ajout de 3 g/L de glucose. Dans le cas des boues hydrolysées, on remarque une faible augmentation de la toxicité suite à l'ajout de 2 g/L de glucose, passant de 14 113 UI/ μ L à 15 147 UI/ μ L. Cependant, pour ce qui est des cellules et des

spores, les résultats ont été grandement affectés par l'ajout de 1 g/L de glucose. En effet, le nombre de cellules maximales obtenues se situe à 22.3×10^9 UFC/mL et le nombre de spores à 21.1×10^9 UFC/mL, ce qui représente un pourcentage de sporulation d'environ 95%. L'atteinte d'un aussi haut pourcentage de sporulation démontre qu'un nombre élevé de spores ou de cellules n'induit pas obligatoirement une amélioration de la toxicité. En effet, la corrélation entre le nombre de spores et le potentiel entomotoxique reste à vérifier, car un nombre de spores élevé n'est pas automatiquement associé à un bon résultat d'entomotoxicité. Aussi, il serait important de tester une source de carbone non conventionnelle et moins dispendieuse que le glucose. Pour ce faire, les eaux usées de l'amidon pourraient être une éventualité.

L'utilisation des boues de levures comme source d'azote dans les boues n'a pas présenté de résultats significativement différents quant aux nombres de cellules. Cependant, il a été démontré de façon plus marquée dans les boues non hydrolysées, que le nombre de spores diminuait suivant l'augmentation des concentrations de boues de levures ajoutées aux boues. Ces résultats correspondent bien aux données retrouvées dans la littérature, qui stipulent qu'il doit y avoir une carence en azote dans le milieu pour provoquer l'induction de la sporulation chez *Bacillus thuringiensis*. En ce qui a trait au potentiel entomotoxique, l'ajout de 1 et 2 g/L de boues de levures à des boues non hydrolysées a permis une augmentation passant de 10 566 UI/ μ L à 12 912 et 13 300 UI/ μ L. Pour ce qui est des boues hydrolysées, on remarque une légère hausse du potentiel entomotoxique lors de l'ajout de 1 g/L de boues de levures, passant de 14 113 à 15 406 UI/ μ L. Il serait intéressant de refaire ces expériences en utilisant des concentrations de 200, 500 et 800 mg/L de boues de levures, afin de voir si la concentration optimale de cette source d'azote ne se retrouve pas en dessous de 1 g/L. De plus, afin de contrer le problème d'augmentation du pH du milieu de culture, il serait important de refaire les expériences dans des conditions où le pH est contrôlé; c'est-à-dire dans un fermenteur.

L'ajout d'une source d'azote organique, comme les extraits de levures, à des boues secondaires de la CUQ, a eu un grand impact sur le nombre de cellules et de spores retrouvé dans le milieu de culture. En effet, le nombre de cellules est passé de 7.97×10^8 UFC/mL à 6.0×10^9 CFU/mL et le nombre de spores a augmenté de 6.33×10^8 UFC/mL à 2.1×10^9 UFC/mL suite à l'ajout de 1 g/L d'extraits de levures à des boues non hydrolysées. Comme attendu, ces mêmes résultats obtenus dans des boues hydrolysées ont été beaucoup plus élevés. On a obtenu un maximum de

29.2×10^9 UFC/mL cellules et 25.1×10^8 UFC/mL spores. En ce qui concerne l'entomotoxicité, on ne remarque qu'une légère hausse dans les boues prétraitées, passant de 14 113 à 15 683 UI/ μ L.

Dans l'ensemble des expérimentations effectuées, on remarque que l'ajout d'un agent tensio-actif, tel le Tween 80, est l'élément qui a le plus contribué à l'augmentation du potentiel entomotoxique du biopesticide, et ce, en raison des propriétés de ce dernier. Comme démontré dans la littérature, le Tween 80 facilite le transfert de l'oxygène et des nutriments à l'intérieur de la cellule, ce qui affecte directement le taux de croissance, de sporulation et par le fait même, le taux de synthèse des cristaux protéiques. En effet, les expériences ont démontré que l'ajout de 0.10% (v/v) de Tween 80 à des boues non hydrolysées augmentait l'entomotoxicité de 65%, la faisant passer de 10 566 à 17 386 UI/ μ L. Par contre, dans les boues hydrolysées, il a été observé une augmentation de 25% en ajoutant du surfactant à raison de 0.40% (v/v) dans les boues, la valeur de toxicité passant de 14 113 à 17 733 UI/ μ L.

L'ajout de glucose, de boues et d'extraits de levures de même que de Tween 80 dans des boues secondaires hydrolysées ou non de la CUQ a permis une bonne augmentation de l'entomotoxicité. Pour cette raison, il pourrait être avantageux d'effectuer une expérimentation en combinant ces différents éléments afin de vérifier si l'ensemble de ceux-ci pourrait avoir un effet synergique sur la toxicité du biopesticide.

Par contre, les résultats obtenus lors des expériences réalisées avec l'ajout de sulfate d'ammonium comme source d'azote, du mélange de boues hydrolysées à des boues non hydrolysées et de l'utilisation du surnageant des boues secondaires de la CUQ et des boues secondaires et déshydratées de Jonquière comme milieu de culture, n'ont pas présenté de hausse du potentiel entomotoxique des cristaux protéiques, que ce soit dans des boues prétraitées ou non, ce qui confirme les éléments mentionnés dans la littérature.

L'épaississement des boues secondaires de la CUQ par les méthodes de la centrifugation et par l'ajout de polymères a démontré que le Percol 757 diminuait très peu le nombre de cellules et de spores retrouvées dans les boues non hydrolysées. Cependant, l'entomotoxicité n'en est pas affecté. Ainsi, il est possible d'utiliser les polymères pour l'épaississement des boues qui ne

subiront pas de traitement d'hydrolyse, sans affecter les résultats de toxicité. Par contre, puisque les boues épaissies par les polymères sont assez collantes et qu'elles ont un aspect pâteux pouvant nuire à la croissance de *Bt* et surtout causer des problèmes lors de la fermentation tel que le blocage des piquages ou des sondes de contrôle, il serait intéressant de tester les effets des polymères dans des boues hydrolysées. Il est probable que le traitement des boues dégrade les polymères et règle les problèmes de colmatage dans les conduits des fermenteurs tout en permettant une bonne croissance de la bactérie.

Les expériences effectuées avec des boues secondaires de Jonquière, avec des boues déshydratées de Jonquière et en mélangeant des boues secondaires et des boues déshydratées de Jonquière ont démontré que l'usage de ces boues activées n'était pas en mesure d'augmenter les comptes de cellules et de spores de même que l'entomotoxicité de *Bacillus thuringiensis*. Par contre, il serait intéressant de vérifier si un mélange de boues secondaires de la CUQ avec des boues secondaires de Jonquière ou de boues déshydratées de Jonquière aurait un effet comparable aux résultats obtenus dans ces expériences. Ces expériences devraient être réalisées en parallèle dans des boues prétraitées et non. Finalement, il pourrait être avantageux de tenter de cultiver d'autres souches de *Bacillus thuringiensis* dans les boues de Jonquière et d'effectuer une comparaison entre les différents résultats obtenus.

Bibliographie

- ABDEL-HAMEED A., CARLBERG G., EL-TAYEB O., 1990. Studies on *Bacillus thuringiensis* H-14 strains isolated in Egypt, III: Selection of media for δ -endotoxin production, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, Vol.6: 313-317.
- ADAMS T.T., EITEMAN M.A., ADANG M.J., 1999. *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* spore production in batch culture using broiler litter extracts as complex media, *Bioresource Technology*, Vol.67: 83-87.
- ANDERSON, T. B. (1990). Effects of carbon:nitrogen ratio and oxygen on the growth kinetics of *Bacillus thuringiensis* and yield of bioinsecticidal crystal protein, MSc thesis, University of Western Ontario, Canada.
- ANDREASEN, K., G. PETERSEN, H. THOMSEN ET R. STRUBE (1997). Reduction of nutrient emission by sludge hydrolysis. *Water Science and Technology*. 35(10) :79-85.
- ALVES, L. F. A., ALVES, S. B., PEREIRA, R. M. ET CAPALBO, D. M. F. (1997). Production of *Bacillus thuringiensis* Berliner var. *kurstaki* Grown in Alternative Media. *Biocontrol Science and Technology*. 7 :377-383.
- ARCAS, J., YANTORO, O., ARRARAS, E. ET ERTOLA, R. (1984). A new medium for growth and delta-endotoxin production by *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Biotechnol. Lett.*, 6(8) :495-500.
- ASCE et WPCF (1988). Aeration – A wastewater treatment process. WPCF – Manual of practice, No. FD-13, ASCE – Manuals and reports on engineering practice, No. 68, American Society of Civil Engineering et Water Pollution Control Federation.
- ATLAS, R. M., BARTHA, R. (1998). Microbial Ecology. Fundamentals and Applications. Fourth edition. *Benjamin/Cummings Science Publishing*. 281-325.
- BAPE (1990). Déchets d'hier, ressources de demain. Rapport de la commission sur la gestion des matières résiduelles, Bureau d'Audience Publique du Québec, Les Publications du Québec, Québec 477 pages + annexes.
- BARNABÉ, S. (2003). *Biosolides comme matière première pour la production de biopesticide : amélioration du potentiel entomotoxique par le traitement des boues*. Thèse de doctorat, Université du Québec, INRS-ETE, Québec, Canada.

- BARNABÉ, S. (2000). *Utilisation des boues d'épuration comme substrat pour la production de biopesticides : induction abiotique de la sporulation chez Bacillus thuringiensis*. Mémoire de maîtrise, Université du Québec, INRS-ETE, Québec, Canada, 157 pages.
- BARNABÉ, S., SASSEVILLE, J.-L., TYAGI, R. D. ET VALÉRO, J. R. (2003). Eaux usées et résidus industriels, matières tertiaires ou matières premières? *Vecteur environnement*. 36(2) :50-62.
- BAUM, J. A. ET MALVAR, T. (1995). Regulation of insecticidal crystal protein production in *Bacillus thuringiensis*. *Mol. Microbiol.* 18(1) :1-12.
- BEN REBAH, F., TYAGI, R. D. ET PREVOST, D. (2002). Production of *S. meliloti* using wastewater sludge as a raw material: effect of nutriment addition and pH control. *Environmental Technology*. 23:623-629.
- BENEFIELD, L. D. ET RANDALL, C. W. (1980). Biological process design for wastewater treatment. Prentice-Hall inc.
- BERTUCCI, J. J. ET SEDITA, S. J. (1992). Microbiology of sludge. *Municipal sewage sludge management : processing, utilization and disposal*. C. Lue-Hing, D. R. Zenz et T. Kuchenrither (éds), Water Quality Management Library, Vol. 4, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, Pennsylvanie, Etats-Unis, Chap. 4, 139-179.
- BLAIS, J. F. ET SASSEVILLE, J. L. (1994). *État de l'art du traitement et de la disposition ou valorisation des boues d'usines d'épuration municipales. Les mesures d'efficacité énergétique dans le secteur de l'eau*. Projet mandaté par Hydro-québec, rapport scientifique No. 429, INRS-Eau, Université du Québec, 150 pages.
- BORGHI, D. A., CONVERTI, A., PALAZZI, E. ET BORGHI, M. D. (1999). Hydrolysis and thermophilic anaerobic digestion of sewage sludge and organic fraction of municipal solid waste. *Bioprocess Engineering*. 20 :553-560.
- BRITISH COLUMBIA MINISTRY OF AGRICULTURE, FOOD AND FISHERIES (1994). Hog slurry separation with a centrifuge. *Waste Management FACTSHEET*. 382 :340-341.
- BULLA, L. A., BECHTEL, D. B., KRAMER, K. J., SCHETHNA, Y. I., ARONSON, A. I. ET FITZ-JAMES, P. C. (1980). Ultrastructure, physiology and biochemistry of *Bacillus thuringiensis*. *CRC Crit. Rev. Microbiol.* 8 : 147-204.
- CHEN, Y., YANG, H. ET GU, G. (2001). Effet of acid and surfactant treatment on activated sludge dewatering and settling. *Water Research*. 11 :2615-2620.
- CHEREMISINOFF, P. N. (1992). Filter presses for industrial effluent and sludge dewatering. *Nat. Environ. J.* 2(4) :48.

- COPPING, L. G. ET MENN J. J. (2000). Biopesticides : a review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science*. 56 :651-676.
- DELGENES, J. P., PENAUD, V., TORRIJOS, M. ET MOLETTA, R. (2000). Investigation on the changes in anaerobic biodegradability and biotoxicity of an industrial microbial biomass induced by a thermochemical pretreatment. *Water Science and Technology*. 41(3) :137-144.
- DESJARDINS, R. (1997). *Le traitement des eaux*. 2^{ème} Édition, École Polytechnique de Montréal, Montréal, Canada.
- DULMAGE, H. T. (1970). Insecticidal activity of HD-1, a new isolates of *Bacillus thuringiensis* var. *alesti*. *J. Invert. Pathol.* 15 :232-239.
- DULMAGE, H. T. ET AIZAWA, K. (1982) Distribution of *Bacillus thuringiensis* in nature. *Microbial and Viral Pesticides* (éd. : Kurstak, E.) 209-237.
- DZIEZAK, J. D. (1987). Yeasts and yeast derivatives: definitions, characteristics and processing. *Food Technology*. 104-121.
- EVERETT, J. G. (1974). The effect of pH on the heat treatment of sewage sludges.
- FAN, A., TURRO, N. J., SOMASUNDARAN, P. (2000). A study of dual polymer flocculation. *Physicochemical and Engineering Aspects*. 162 :141-148.
- FODA, M. S., SALAMA, H. S. ET SELIM, M. (1985). Factors affecting growth physiology of *Bacillus thuringiensis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 22 :50-52.
- GUIDE CANADIEN D'ÉVALUATION DES INCIDENCES SUR LA SANTÉ (1999). Prise de décisions en matière d'évaluation des incidences de l'environnement sur la santé. Vol 2.
- GOSSETT, J. M., STUCKEY, D. C., OWEN, W. F. ET MCCARTY, P. L. (1982). Heat treatment and anaerobic digestion of refuse. *Journal of the Environmental Engineering*. 437-454.
- GOUVERNEMENT DU QUEBEC (1996b). *Guide technique général sur les eaux usées industrielles*. Version préliminaire. Ministère de l'Environnement et de la Faune. Direction des politiques du secteur industriel. Service de l'assainissement des eaux, décembre.
- HANNAY, C. L. (1953). Crystalline inclusions in aerobic sporeforming bacteria. *Nature*, 172 :1004.
- HANSON, R. S., BLICHARSKA, J. ET SZULMAJSTER, J. (1964). Relationship between the tricarboxylic acid cycle enzymes and sporulation of *Bacillus thuringiensis*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 17 :1-7.

- HAUG, R. T., LEBRUN T. H. ET TORTORICI, L. D. (1983). Thermal pretreatment of sludges – a field demonstration. *Journal WPCF*. 55(1) :23-34.
- HERRNSTADT, C., SOARES, G. C., WILCOX, E. R. ET EDWARDS, D. L. (1986). A new strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran insects. *Bio/Technology*. 4 :305-308.
- HIRAOKA, M., TAKEDA, N., SAKAI, S. ET YASUDA, A. (1984). Highly efficient anaerobic digestion with thermal pretreatment. *Water Science and Thechnology*. 17 :529-539.
- HÖFTE, H. ET WHITELEY, H. R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. Rev.*, 53(2) :242-255.
- İÇGEN, Y., İÇGEN, B., ÖZCENGİZ, G. (2002). Regulation of crystal protein biosynthesis by *Bacillus thuringiensis* : II. Effects of carbon and nitrogen sources. *Middle East Technical University*. 1-8.
- KANG, B. C., LEE, S. Y. ET CHANGE, H. N. (1992). *Biotechnol. Lett.* 14 :721-726.
- KARLSSON, I. ET GÖRANSSON, J. (1993). Thermic Sludge Treatment. *Water Science and Thechnology*. 27(5-6)449-456.
- KWA M.S.G., DE MAAGD R.A., STIEKEMA W.J., VLAK J.M., BOSCH D. (1998). Toxicity and binding properties of the *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin Cry1C to cultured insect cells, *Journal of invertebrate pathology*, Vol.71: 121-127.
- LACHHAB, K., TYAGI, R. D., VALERO, J. R. (2001). Production of *Bacillus thuringiensis* biopesticides using wastewater sludge as a raw material : effet of inoculum and sludge solids concentration. *Process Biochemistry*. 37 :197-208.
- LEE H.L., SELEENA P., (1991). Fermentation of a Malysian *Bacillus thuringiensis* serotype H-14 isolate, a mosquito microbial control agent utilizing local wastes, *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health*, Vol.22, No.1: 108-112.
- LI, Y.-Y. ET NOIKE, T. (1992). Upgrading of anaerobic digestion of waste activated sludge by thermal pretreatment. *Water Science and Technology*. 3-4 :857-866.
- LIU, W. –M., BIHARI, V. ET BAJPAI, R. (1995). A Carbon-Limited Medium for Growth and Sporulation of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. *Hindustan Antibiotics Bulletin*. 37(1-4) :1-8.
- LIU, B. –L., TZENG, Y. –M. (2000). Characterization Study of the Sporulation Kinetics of *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnol Bioengineering*. 68 :11-17.
- LUTHY, P., CORDIER, J.-L., FISCHER, H.-M. (1982). *Bacillus thuringiensis* as a bacterial insecticide : basic considarations and applications. *Microbial and Viral Pesticides* (éd. : Kurstak, E.). 35-74.

- MASSE, L., KENNEDY, K. J. ET CHU, S. (2001). Testing of alkaline and enzymatic hydrolysis pretreatment for fat particules in slaughterhouse wastewater. *Bioresource Technology*. 77 :145-155.
- MCMORRAN A. (1965). A synthetic Diet for the Spruce Budworm, *Choristoneura fumiferana*, *The Canadian Entomologist*, Vol.97: 58-62.
- MOHAMMEDI S., (2003). *Isolement et caractérisation de souches de Bacillus thuringiensis dans les boues d'épuration*, Thèse de doctorat, INRS-Eau, Université du Québec, Québec, Canada.
- MUMMIGATTI S.G., RAGHUNATHAN A.N. (1990). Influence of media composition on the production of δ -endotoxin by *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*, *Journal of Invertebrate Pathology*, Vol.55: 147-151.
- MUSTRANTA, A. ET VIKARI, L. (1993). Dewatering of activated sludge by an oxidative treatment. *Water Science and Technology*. 28(1) :213-221.
- NOVELLI, A., OTTONELLO, F., CONVERTI, A., LODI, A., ROVATTI, M. ET DEL BORGHI, M. (1995). Alkaline Hydrolysis for the Treatment of the Organic Fraction of Municipal Solid Wastes and Sludges. *Chemical Biochemistry Engineering Q.* 9(4) :195-199.
- OTVOS I., VANDEVEEN S. (1993). Environmental report and current status of *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki* use for control of forest and agricultural insect pests, Ministère des forêts, province de la Colombie Britannique et forêt-Canada, p.81.
- PAIGE, M. R. ET COOPER, D. R. (1990). Scale-up of beta exotoxine production in fed-batch *Bacillus thuringiensis* fermentations. 5th *European Congress on Biotechnology*. 146-149.
- PEARSON, D. ET WARD, O. P. (1988). Effect of culture conditions on growth and sporulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Israelensis* and development of media for production of the protein crystal endotoxin. *Biotechnology Letters*. 10(7) :451-456.
- PENAUD, V., DELGENES, J. P. ET MOLETTA, R. (1999). Thermo-chemical pretreatment of microbial biomass : influence of sodium hydroxide addition on solubilization and anaerobic biodegradability. *Enzyme and Microbial Technology*. 25 :258-263.
- PERANI, M. ET BISHOP, A. H. (2000). Effects of media composition on δ -endotoxin production and morphology of *Bacillus thuringiensis* in wild types and spontaneously mutated strains. *Microbios*. 101 :47-66.
- PRIEST, F. G. (1977). Extracellular Enzyme Synthesis in the genus *Bacillus*. *Bacteriological Reviews*. 711-753.

- PRIETO-SAMSONÓV, DI., VÁZQUEZ-PADRÓN, RI., AYRA-PARDO, C., GONZÁLEZ-CABRERA, J. ET DE LA RIVA, GA. (1997). *Bacillus thuringiensis* : from biodiversity to biotechnology. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 19 :202-219.
- PRESCOTT, HARLEY, KLEIN (1995). Microbiologie. *DeBoeck Université*. 804-822.
- RAJAMOCHAN F., ALZATE O., COTRILL A., CURTISS A., DEAN D.H. (1996). Protein engineering of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin: mutations at domain II of Cry1Ab enhance receptor affinity and toxicity toward gypsy moth larvae, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.93: 14338-14343.
- RAJAN, R. V., LIN, J.-G. ET RAY, B. T. (1989). Low-level chemical pretreatment to enhanced sludge solubilization. *Research Journal WPCF*. 61(11-12) :1678-1683.
- RAJNCHAPEL-MESSAI, J. (1993). *Bacillus thuringiensis*, les insectes font de la résistance. *Biofutur*. 10 :33-38.
- RIVERA, D., MARGARITIS, A. ET DE LASA, H. (1999). A Sporulation Kinetic Model for Batch Growth of *B. thuringiensis*. *The canadian journal of chemical engineering*. 77 :903-909.
- ROCHER, M., GOMA, G., BEGUE, A. P., LOUVEL, L. ET ROLS, J. L. (1999). Towards a reduction in excess sludge production in activated sludge process : biomass physicochemical treatment and biodegradation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 51 :883-890.
- ROWE G.E. (1990). Central metabolism of *Bacillus thuringiensis* during growth and sporulation, PhD. Thesis, University of western Ontario, Canada.
- SACHDEVA, V., TYAGI, R. D. ET VALERO, J. R. (1999). Factors affecting the production of *Bacillus thuringiensis* biopesticides. *Recent Ressource Development in Microbiology*. 3 :363-375.
- SACHDEVA, V., TYAGI, R. D. ET VALÉRO, J. R. (2000). Production of biopesticides as a novel method of wastewater sludge utilization/disposal. *Water Science and Technology*. 42 :211-216.
- SCHIEDER, D., SCHNEIDER, R. ET BISCHOF, F. (2000). Thermal hydrolysis (TDH) as a pretreatment method for the digestion of organic waste. *Water Science and Technology*. 41(3) :181-187.
- SAKSINCHAI, S., SUPHANTHARIKA, M. ET VERDUYN, C. (2001). Application of a simple yeast extract from spent brewer's yeast for growth and sporulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* : a physiological study. *World Journal of Microbiology Biotechnology*. 17 :307-316.

- SALAMA, H. S., FODA, M. S. , DULMAGE, H. T. ET EL-SHARABY, A. (1983). Novel Fermentation Media for Production of δ -Endotoxins from *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 41 :8-19.
- SMELLIE, R. H., LAMER, V. K. (1958). *J. Colloid Sci.* 23 : 589.
- STRIZHOV N., KELLER M., MATHUR J., KONCZ-KALMAN Z., BOSCH D., PRUDOVSKY E., SCHELL J., SNEH B., KONCZ C., ZILBERSTEIN A. (1996). A synthetic CryIC gene, encoding a *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin, confers spodoptera resistance in alfalfa and tobacco, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, Vol.93: 15012-15017.
- TIRADO MONTIEL, M. L. (1997). *Utilisation des boues des usines de traitement comme moyen alternatif pour la production de l'insecticide microbien Bacillus thuringiensis*. Thèse de Doctorat, Université du Québec, INRS-ETE, Québec, Canada, 223 pages.
- TIRADO MONTIEL, M. L., TYAGI, R. D. ET VALERO, J. R. (1998). Production of *Bacillus thuringiensis* biopesticides using waste materials. *Bioconversion of waste materiels to industrial products*. 480-516.
- TIRADO MONTIEL, M. L., TYAGI, R. D. ET VALERO, J. R. (2001). Wastewater treatment sludge as a raw material for the production of *Bacillus thuringiensis* based biopesticides. *Water Ressources*. 16 :3807-3816.
- VIDYARTHI, A. S., TYAGI, R. D. ET VALERO, J. R. (2001). Effect of surface active agents on the production of biopesticides using wastewater sludge as a raw material. *Water Science and Technology*. 44(10) :253-259.
- VIDYARTHI, A. S., TYAGI, R. D., VALERO, J. R. ET SURAMPALLI, R. Y. (2002). Studies on the production of *B. thuringiensis* based biopesticides using wastewater sludge as a raw material. *Water Research*. 36 :4850-4860.
- VOLLERTSEN, J., ALMEIDA, M. D. C. ET HVITVED-JACOBSEN, T. (1999). Effects of temperature and dissolved oxygen on hydrolysis of sewer solids. *Water Ressources*. 33(14) :3119-3126.
- WHISTLER, R. L. ET BEMILLER, J. N. (1958). Alkaline degradation of polysaccharides. *Advanced Carbohydrate Chemical*. 289-329.
- WIDNER, W. R. ET WHITELEY, H. R. (1989). *Bacteriol.*, 171, No. 2, 965 pages.
- YANG, X. -M. (2000a). Process Optimization, Scale-Up and Computeur control For Genetically Engineered, *Bacillus thuringiensis* Producing Dual Toxin Proteins. *Biotechnology and Applied Biochemistry*. 31: 71-76.

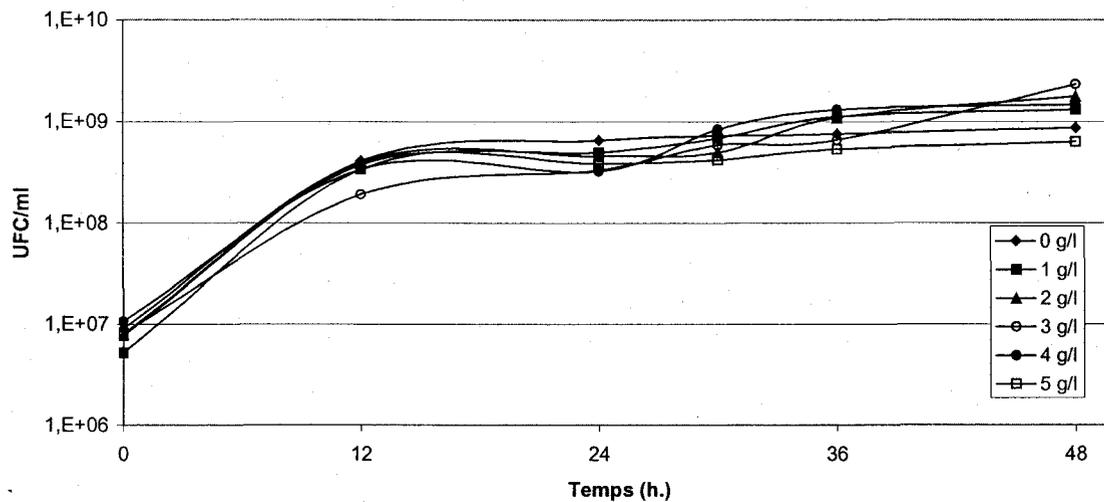
- YANG, X. -M. ET WANG, S. S. (2000b). Phase specific optimization of multiple endotoxin-protein production with genetically engineered *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnology, Application and Biochemistry*, 31 :71-76.
- YANG, X. -M. ET WANG, S. S. (1998). Development of *Bacillus thuringiensis* fermentation and process control from a practical perspective. *Biotechnology, Application and Biochemistry*, 28 :95-98.
- YUDINA, T. G., SALAMAKHA, O. V., OLEKHNOVICH, E. O., ROGATYKH, N. P. ET EGOROV, N. S. (1993). Effect of carbon source on the biological activity and morphology of paraspore crystals from *Bacillus thuringiensis*. *Microbiology*. 61: 402-407.
- ZOUARI, N. ET JAOUA, S. (1999). The effect of complex carbon and nitrogen, salt, Tween-80 and acetate on delta-endotoxin production by *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki*. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 23 :497-502.



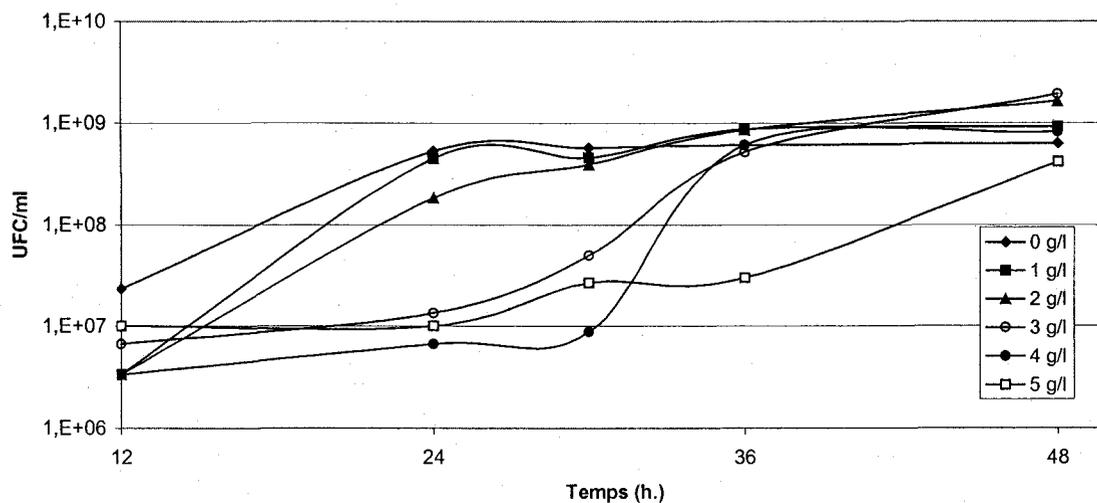
ANNEXE A

Résultats pour l'ajout d'extraits et de boues de levures

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose



Nombre de spores dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose



ANNEXES

EXPÉRIENCE 0 g/l glucose boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 3 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	91	910	9,03E+06						
		2	0,1	95	950							
		3	0,1	85	850							
12	6	1	0,1	72	720	4,03E+08	6	1	0,1	2	20	2,33E+07
		2	0,1	29	290				0,1	5	50	
		3	0,1	20	200				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	60	600	6,50E+08	6	1	0,1	55	550	5,30E+08
		2	0,1	68	680				0,1	54	540	
		3	0,1	67	670				0,1	50	500	
30	6	1	0,1	75	750	7,23E+08	6	1	0,1	41	410	5,70E+08
		2	0,1	70	700				0,1	61	610	
		3	0,1	72	720				0,1	69	690	
36	6	1	0,1	74	740	7,53E+08	6	1	0,1	55	550	6,05E+08
		2	0,1	80	800				0,1	66	660	
		3	0,1	72	720				0,1			
48	6	1	0,1	92	920	8,60E+08	6	1	0,1	67	670	6,33E+08
		2	0,1	87	870				0,1	62	620	
		3	0,1	79	790				0,1	61	610	

EXPÉRIENCE 1 g/l glucose boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 3 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	37	370	5,20E+06						
		2	0,1	50	500							
		3	0,1	69	690							
12	6	1	0,1	24	240	3,33E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	34	340				0,1	0	0	
		3	0,1	42	420				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	50	500	4,97E+08	6	1	0,1	53	530	4,50E+08
		2	0,1	54	540				0,1	45	450	
		3	0,1	45	450				0,1	37	370	
30	6	1	0,1	60	600	6,83E+08	6	1	0,1	40	400	4,57E+08
		2	0,1	76	760				0,1	53	530	
		3	0,1	69	690				0,1	44	440	
36	6	1	0,1	123	1230	1,11E+09	6	1	0,1	89	890	8,67E+08
		2	0,1	102	1020				0,1	75	750	
		3	0,1	108	1080				0,1	96	960	
48	6	1	0,1	129	1290	1,31E+09	6	1	0,1	94	940	9,23E+08
		2	0,1	128	1280				0,1	92	920	
		3	0,1	135	1350				0,1	91	910	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 2 g/l glucose boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 3 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	81	810	7,97E+06						
		2	0,1	77	770							
		3	0,1	81	810							
12	6	1	0,1	40	400	3,87E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	44	440				0,1	1	10	
		3	0,1	32	320				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	46	460	4,57E+08	6	1	0,1	15	150	1,83E+08
		2	0,1	50	500				0,1	20	200	
		3	0,1	41	410				0,1	20	200	
30	6	1	0,1	48	480	4,93E+08	6	1	0,1	43	430	3,90E+08
		2	0,1	57	570				0,1	47	470	
		3	0,1	43	430				0,1	27	270	
36	6	1	0,1	94	940	1,09E+09	6	1	0,1	86	860	8,57E+08
		2	0,1	109	1090				0,1	77	770	
		3	0,1	125	1250				0,1	94	940	
48	6	1	0,1	185	1850	1,77E+09	6	1	0,1	156	1560	1,64E+09
		2	0,1	146	1460				0,1	140	1400	
		3	0,1	201	2010				0,1	195	1950	

EXPÉRIENCE 3 g/l glucose boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 10 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	121	1210	8,07E+06						
		2	0,1	58	580							
		3	0,1	63	630							
12	6	1	0,1	19	190	1,90E+08	6	1	0,1	1	10	6,67E+06
		2	0,1	23	230				0,1	1	10	
		3	0,1	15	150				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	31	310	3,30E+08	6	1	0,1	0	0	1,33E+07
		2	0,1	31	310				0,1	4	40	
		3	0,1	37	370				0,1	0	0	
30	6	1	0,1	58	580	5,87E+08	6	1	0,1	5	50	5,00E+07
		2	0,1	63	630				0,1	5	50	
		3	0,1	55	550				0,1	5	50	
36	6	1	0,1	67	670	6,57E+08	6	1	0,1	58	580	5,17E+08
		2	0,1	60	600				0,1	46	460	
		3	0,1	70	700				0,1	51	510	
48	6	1	0,1	200	2000	2,32E+09	6	1	0,1	224	2240	1,91E+09
		2	0,1	231	2310				0,1	181	1810	
		3	0,1	264	2640				0,1	169	1690	

ANNEXES

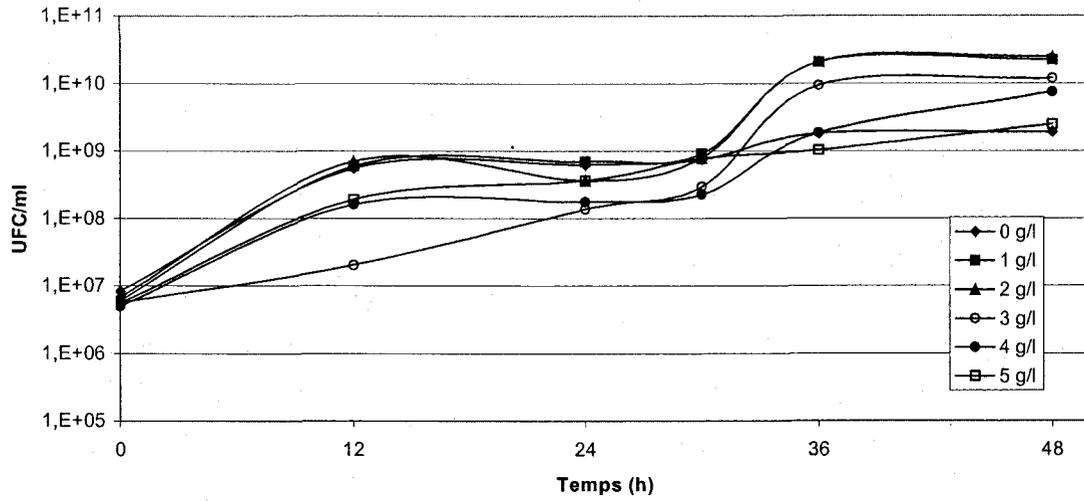
EXPÉRIENCE 4 g/l glucose boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 10 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	100	1000	1,06E+07						
		2	0,1	118	1180							
		3	0,1	101	1010							
12	6	1	0,1	39	390	3,37E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	35	350				0,1	0	0	
		3	0,1	27	270				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	38	380	3,20E+08	6	1	0,1	1	10	6,67E+06
		2	0,1	35	350				0,1	1	10	
		3	0,1	23	230				0,1	0	0	
30	6	1	0,1	54	540	8,37E+08	6	1	0,1	0	0	6,67E+06
		2	0,1	127	1270				0,1	1	10	
		3	0,1	70	700				0,1	1	10	
36	6	1	0,1	135	1350	1,31E+09	6	1	0,1	87	870	6,10E+08
		2	0,1	173	1730				0,1	47	470	
		3	0,1	84	840				0,1	49	490	
48	6	1	0,1	134	1340	1,47E+09	6	1	0,1	97	970	8,23E+08
		2	0,1	161	1610				0,1	90	900	
		3	0,1	145	1450				0,1	60	600	

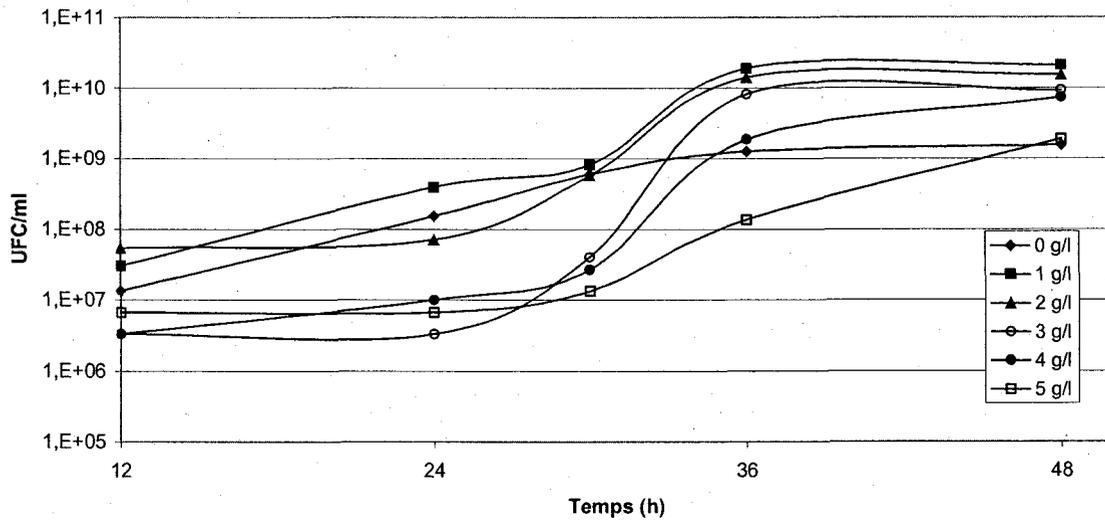
EXPÉRIENCE 5 g/l glucose boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 10 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	77	770	7,70E+06						
		2	0,1	74	740							
		3	0,1	80	800							
12	6	1	0,1	39	390	3,73E+08	6	1	0,1	1	10	1,00E+07
		2	0,1	29	290				0,1	1	10	
		3	0,1	44	440				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	35	350	3,83E+08	6	1	0,1	0	0	1,00E+07
		2	0,1	33	330				0,1	1	10	
		3	0,1	47	470				0,1	2	20	
30	6	1	0,1	49	490	4,17E+08	6	1	0,1	2	20	2,67E+07
		2	0,1	33	330				0,1	4	40	
		3	0,1	43	430				0,1	2	20	
36	6	1	0,1	52	520	5,33E+08	6	1	0,1	3	30	3,00E+07
		2	0,1	52	520				0,1	2	20	
		3	0,1	56	560				0,1	4	40	
48	6	1	0,1	55	550	6,27E+08	6	1	0,1	41	410	4,17E+08
		2	0,1	73	730				0,1	41	410	
		3	0,1	60	600				0,1	43	430	

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose



Nombre de spores dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de glucose



ANNEXES

EXPÉRIENCE 0 g/l glucose boues hydrolysées (35 g/l)

semaine du 17 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	63	630	8,27E+06						
		2	0,1	83	830							
		3	0,1	102	1020							
12	6	1	0,1	50	500	5,50E+08	6	1	0,1	2	20	1,33E+07
		2	0,1	67	670				0,1	1	10	
		3	0,1	48	480				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	58	580	6,27E+08	6	1	0,1	12	120	1,50E+08
		2	0,1	73	730				0,1	19	190	
		3	0,1	57	570				0,1	14	140	
30	6	1	0,1	74	740	7,50E+08	6	1	0,1	47	470	5,93E+08
		2	0,1	85	850				0,1	74	740	
		3	0,1	66	660				0,1	57	570	
36	6	1	0,1	167	1670	1,83E+09	6	1	0,1	167	1670	1,25E+09
		2	0,1	216	2160				0,1	120	1200	
		3	0,1	166	1660				0,1	87	870	
48	6	1	0,1	180	1800	1,91E+09	6	1	0,1	131	1310	1,54E+09
		2	0,1	212	2120				0,1	133	1330	
		3	0,1	180	1800				0,1	199	1990	

EXPÉRIENCE 1 g/l glucose boues hydrolysées (35 g/l)

semaine du 17 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	62	620	6,00E+06						
		2	0,1	51	510							
		3	0,1	67	670							
12	6	1	0,1	52	520	5,97E+08	6	1	0,1	4	40	3,00E+07
		2	0,1	65	650				0,1	3	30	
		3	0,1	62	620				0,1	2	20	
24	6	1	0,1	57	570	6,93E+08	6	1	0,1	39	390	3,90E+08
		2	0,1	68	680				0,1	35	350	
		3	0,1	83	830				0,1	43	430	
30	6	1	0,1	90	900	9,07E+08	6	1	0,1	79	790	8,03E+08
		2	0,1	87	870				0,1	84	840	
		3	0,1	95	950				0,1	78	780	
36	7	1	0,1	220	2200	2,05E+10	7	1	0,1	163	1630	1,90E+10
		2	0,1	211	2110				0,1	198	1980	
		3	0,1	185	1850				0,1	208	2080	
48	7	1	0,1	247	2470	2,23E+10	7	1	0,1	194	1940	2,11E+10
		2	0,1	213	2130				0,1	218	2180	
		3	0,1	209	2090				0,1	221	2210	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 2 g/l glucose boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 17 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	71	710	6,77E+06							
		2	0,1	70	700								
		3	0,1	62	620								
12	6	1	0,1	69	690	7,07E+08	6	1	0,1	3	30	5,33E+07	
		2	0,1	69	690				2	0,1	7		70
		3	0,1	74	740				3	0,1	6		60
24	6	1	0,1	41	410	3,63E+08	6	1	0,1	9	90	7,00E+07	
		2	0,1	39	390				2	0,1	6		60
		3	0,1	29	290				3	0,1	6		60
30	6	1	0,1	78	780	7,87E+08	6	1	0,1	59	590	5,63E+08	
		2	0,1	84	840				2	0,1	53		530
		3	0,1	74	740				3	0,1	57		570
36	7	1	0,1	289	2890	2,07E+10	7	1	0,1	149	1490	1,41E+10	
		2	0,1	153	1530				2	0,1	149		1490
		3	0,1	180	1800				3	0,1	125		1250
48	7	1	0,1	289	2890	2,48E+10	7	1	0,1	137	1370	1,54E+10	
		2	0,1	207	2070				2	0,1	172		1720
		3	0,1						3	0,1	154		1540

EXPÉRIENCE 3 g/l glucose boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 24 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	53	530	5,67E+06							
		2	0,1	62	620								
		3	0,1	55	550								
12	6	1	0,1	2	20	2,00E+07	6	1	0,1	0	0	3,33E+06	
		2	0,1	2	20				2	0,1	0		0
		3	0,1	2	20				3	0,1	1		10
24	6	1	0,1	11	110	1,37E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06	
		2	0,1	13	130				2	0,1	0		0
		3	0,1	17	170				3	0,1	1		10
30	6	1	0,1	24	240	2,93E+08	6	1	0,1	3	30	4,00E+07	
		2	0,1	36	360				2	0,1	5		50
		3	0,1	28	280				3	0,1	4		40
36	7	1	0,1	96	960	9,37E+09	7	1	0,1	78	780	8,03E+09	
		2	0,1	92	920				2	0,1	85		850
		3	0,1	93	930				3	0,1	78		780
48	7	1	0,1	109	1090	1,17E+10	7	1	0,1	103	1030	9,23E+09	
		2	0,1	119	1190				2	0,1	103		1030
		3	0,1	124	1240				3	0,1	71		710

ANNEXES

EXPÉRIENCE 4 g/l glucose boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 24 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	46	460	5,00E+06						
		2	0,1	50	500							
		3	0,1	54	540							
12	6	1	0,1	18	180	1,60E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	12	120				0,1	0	0	
		3	0,1	18	180				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	15	150	1,77E+08	6	1	0,1	0	0	1,00E+07
		2	0,1	22	220				0,1	2	20	
		3	0,1	16	160				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	24	240	2,27E+08	6	1	0,1	3	30	2,67E+07
		2	0,1	25	250				0,1	3	30	
		3	0,1	19	190				0,1	2	20	
36	7	1	0,1	22	220	1,87E+09	7	1	0,1	23	230	1,83E+09
		2	0,1	17	170				0,1	17	170	
		3	0,1	17	170				0,1	15	150	
48	7	1	0,1	68	680	7,43E+09	7	1	0,1	72	720	7,23E+09
		2	0,1	90	900				0,1	74	740	
		3	0,1	65	650				0,1	71	710	

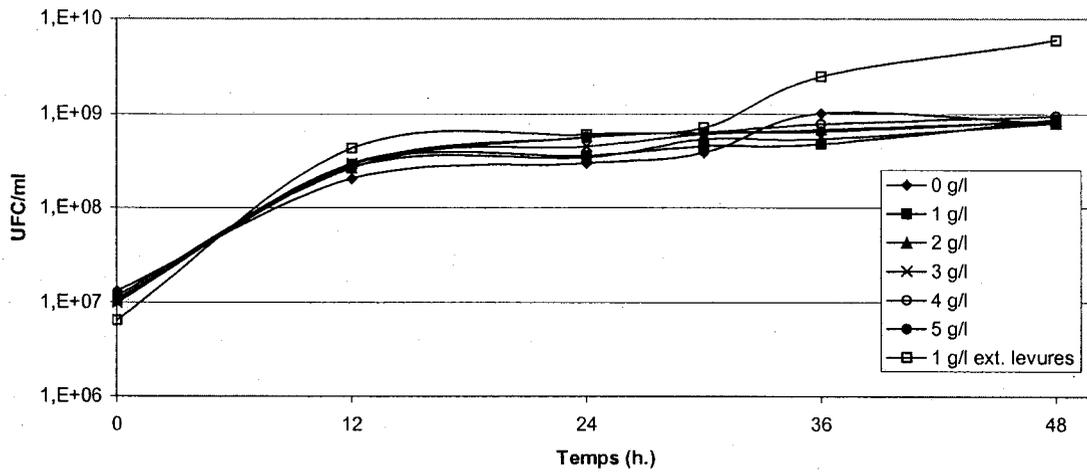
EXPÉRIENCE 5 g/l glucose boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 24 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	51	510	5,53E+06						
		2	0,1	57	570							
		3	0,1	58	580							
12	6	1	0,1	16	160	1,90E+08	6	1	0,1	1	10	6,67E+06
		2	0,1	18	180				0,1	0	0	
		3	0,1	23	230				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	38	380	3,63E+08	6	1	0,1	0	0	6,67E+06
		2	0,1	36	360				0,1	1	10	
		3	0,1	35	350				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	79	790	7,73E+08	6	1	0,1	2	20	1,33E+07
		2	0,1	78	780				0,1	2	20	
		3	0,1	75	750				0,1	0	0	
36	7	1	0,1	11	110	1,03E+09	7	1	0,1	1	10	1,33E+08
		2	0,1	8	80				0,1	2	20	
		3	0,1	12	120				0,1	1	10	
48	7	1	0,1	26	260	2,50E+09	7	1	0,1	23	230	1,87E+09
		2	0,1	26	260				0,1	22	220	
		3	0,1	23	230				0,1	11	110	

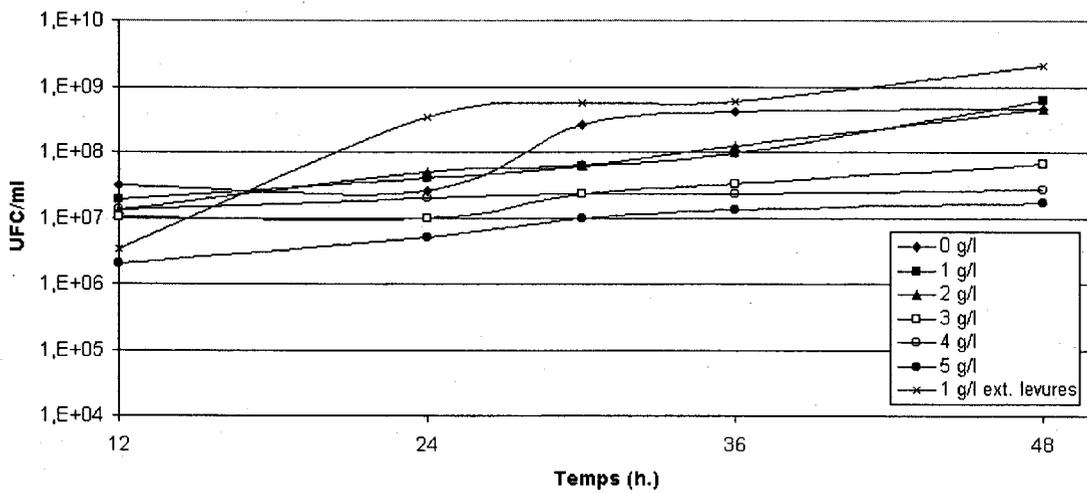
ANNEXE B

Résultats pour l'ajout de glucose

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures



Nombre de spores dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures



ANNEXES

EXPÉRIENCE 0 g/l boues levures boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 13 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	144	1440	1,30E+07						
		2	0,1	116	1160							
		3	0,1	111								
12	5	1	0,1	204	2040	2,04E+08	5	1	0,1	48	480	3,20E+07
		2	0,1	264					0,1	16	160	
		3	0,1						0,1			
24	6	1	0,1	32	320	2,97E+08	6	1	0,1	1	10	2,50E+07
		2	0,1	30	300				0,1	4	40	
		3	0,1	27	270				0,1	2		
30	6	1	0,1	32	320	3,83E+08	6	2	0,1	39	390	2,67E+08
		2	0,1	47	470				0,1	18	180	
		3	0,1	36	360				0,1	23	230	
36	6	1	0,1	152	1520	1,01E+09	6	1	0,1	44	440	4,03E+08
		2	0,1	82	820				0,1	44	440	
		3	0,1	69	690				0,1	33	330	
48	6	1	0,1	91	910	7,97E+08	6	1	0,1	54	540	4,63E+08
		2	0,1	77	770				0,1	45	450	
		3	0,1	71	710				0,1	40	400	

EXPÉRIENCE 1 g/l boues levures boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 13 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	96	960	1,03E+07						
		2	0,1	110	1100							
		3	0,1	104								
12	5	1	0,1	286	2860	2,91E+08	5	1	0,1	10	100	1,85E+07
		2	0,1	295	2950				0,1	27	270	
		3	0,1						0,1	27		
24	6	1	0,1	33	330	3,60E+08	6	2	0,1	6	60	4,00E+07
		2	0,1	43	430				0,1	2	20	
		3	0,1	32	320				0,1	3		
30	6	1	0,1	40	400	4,50E+08	6	1	0,1	11	110	6,00E+07
		2	0,1	51	510				0,1	5	50	
		3	0,1	44	440				0,1	2	20	
36	6	1	0,1	54	540	4,77E+08	6	2	0,1	11	110	9,67E+07
		2	0,1	49	490				0,1	10	100	
		3	0,1	40	400				0,1	8	80	
48	6	1	0,1	95	950	8,70E+08	6	1	0,1	74	740	6,33E+08
		2	0,1	70	700				0,1	56	560	
		3	0,1	96	960				0,1	60	600	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 2 g/l boues levures boues non-hydrolysées (25 g/l)
 semaine du 13 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	100	1000	1,08E+07						
		2	0,1	116	1160							
		3	0,1	106								
12	5	1	0,1	284	2840	2,68E+08	5	1	0,1	16	160	1,30E+07
		2	0,1	251	2510				0,1	18	180	
		3	0,1						0,1	5	50	
24	6	1	0,1	36	360	3,43E+08	6	1	0,1	6	60	5,00E+07
		2	0,1	34	340				0,1	5	50	
		3	0,1	33	330				0,1	4	40	
30	6	1	0,1	51	510	5,37E+08	6	1	0,1	6	60	6,33E+07
		2	0,1	56	560				0,1	7	70	
		3	0,1	54	540				0,1	6	60	
36	6	1	0,1	51	510	5,40E+08	6	1	0,1	10	100	1,20E+08
		2	0,1	48	480				0,1	12	120	
		3	0,1	63	630				0,1	14	140	
48	6	1	0,1	84	840	7,90E+08	6	1	0,1	50	500	4,53E+08
		2	0,1	75	750				0,1	49	490	
		3	0,1	78	780				0,1	37	370	

EXPÉRIENCE 3 g/l boues levures boues non-hydrolysées (25 g/l)
 semaine du 13 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	96	960	9,80E+06						
		2	0,1	103	1030							
		3	0,1	95	950							
12	5	1	0,1	298	2980	2,97E+08	5	1	0,1	15	150	1,03E+07
		2	0,1	295	2950				0,1	11	110	
		3	0,1						0,1	5	50	
24	6	1	0,1	40	400	4,50E+08	6	1	0,1	1	10	1,00E+07
		2	0,1	50	500				0,1	1	10	
		3	0,1	45	450				0,1	3		
30	6	1	0,1	51	510	6,07E+08	6	1	0,1	2	20	2,33E+07
		2	0,1	68	680				0,1	2	20	
		3	0,1	63	630				0,1	3	30	
36	6	1	0,1	63	630	6,77E+08	6	1	0,1	2	20	3,33E+07
		2	0,1	75	750				0,1	3	30	
		3	0,1	65	650				0,1	5	50	
48	6	1	0,1	79	790	8,37E+08	6	1	0,1	10	100	6,67E+07
		2	0,1	79	790				0,1	4	40	
		3	0,1	93	930				0,1	6	60	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 4 g/l boues levures boues non-hydrolysées (25 g/l)

semaine du 13 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	137	1370	1,09E+07						
		2	0,1	107	1070							
		3	0,1	82	820							
12	5	1	0,1	265	2650	2,65E+08	5	1	0,1	13	130	1,30E+07
		2	0,1						14	140		
		3	0,1						12	120		
24	6	1	0,1	56	560	5,67E+08	6	2	0,1	1	10	2,00E+07
		2	0,1	56	560				3	30		
		3	0,1	58	580				2			
30	6	1	0,1	73	730	6,30E+08	6	2	0,1	2	20	2,33E+07
		2	0,1	59	590				3	30		
		3	0,1	57	570				2	20		
36	6	1	0,1	71	710	7,73E+08	6	2	0,1	1	10	2,33E+07
		2	0,1	70	700				4	40		
		3	0,1	91	910				2	20		
48	6	1	0,1	90	900	9,40E+08	6	2	0,1	2	20	2,67E+07
		2	0,1	94	940				3	30		
		3	0,1	98	980				3	30		

EXPÉRIENCE 5 g/l boues levures boues non-hydrolysées (25 g/l)

semaine du 13 mai 2002

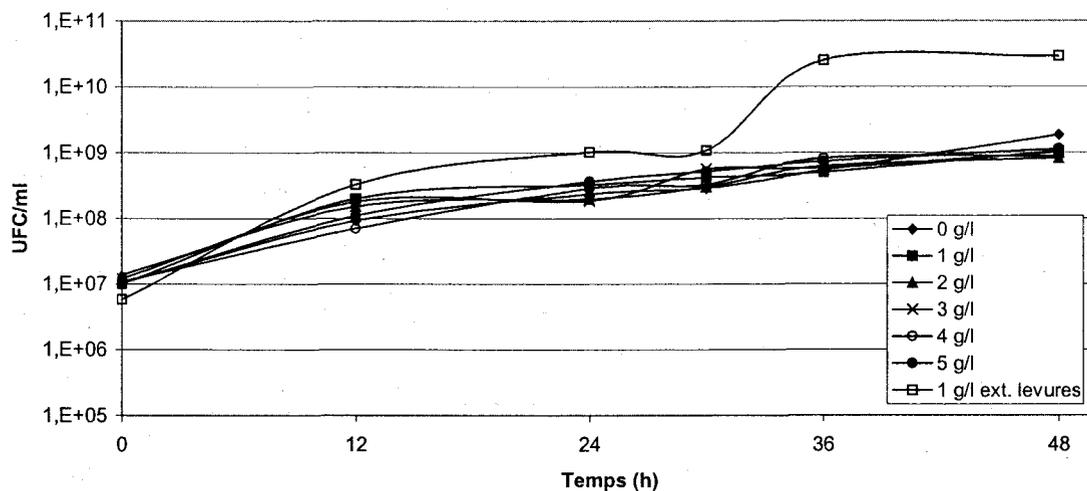
Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	126	1260	1,17E+07						
		2	0,1	104	1040							
		3	0,1	121	1210							
12	5	1	0,1	286	2860	2,86E+08	5	1	0,1	4	40	2,00E+06
		2	0,1						0	0		
		3	0,1						2	20		
24	6	1	0,1	54	540	5,57E+08	6	2	0,1	0	0	5,00E+06
		2	0,1	67	670				1	10		
		3	0,1	46	460				2			
30	6	1	0,1	75	750	6,27E+08	6	1	0,1	1	10	1,00E+07
		2	0,1	45	450				1	10		
		3	0,1	68	680				1	10		
36	6	1	0,1	68	680	6,47E+08	6	2	0,1	1	10	1,33E+07
		2	0,1	71	710				1	10		
		3	0,1	55	550				2	20		
48	6	1	0,1	98	980	8,53E+08	6	2	0,1	2	20	1,67E+07
		2	0,1	67	670				2	20		
		3	0,1	91	910				3	10		

ANNEXES

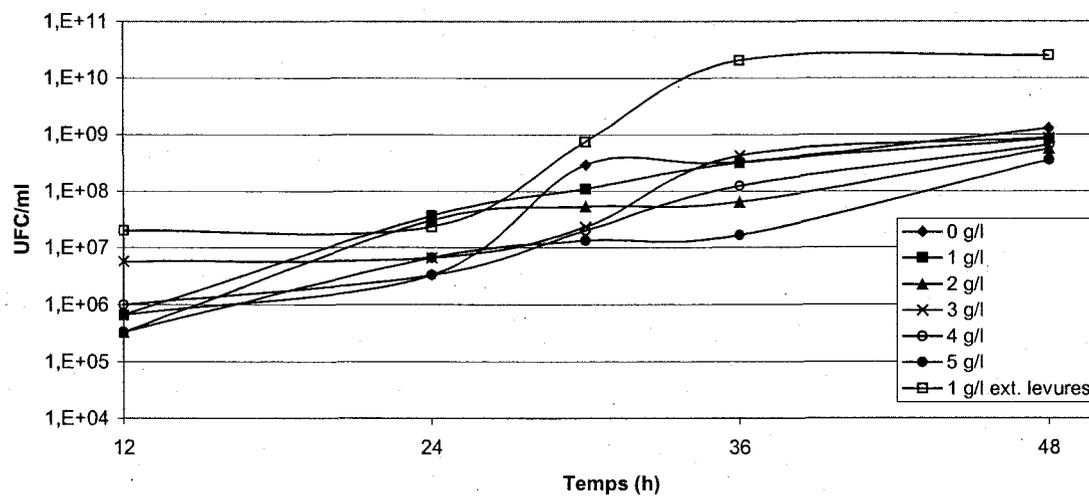
EXPÉRIENCE 1 g/l extrait de levure boues non-hydrolysées (25 g/l)
 semaine du 3 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	59	590	6,37E+06						
		2	0,1	61	610							
		3	0,1	71	710							
12	6	1	0,1	39	390	4,30E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	50	500				0,1	1	10	
		3	0,1	40	400				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	62	620	6,03E+08	6	1	0,1	31	310	3,30E+08
		2	0,1	51	510				0,1	28	280	
		3	0,1	68	680				0,1	40	400	
30	6	1	0,1	62	620	7,10E+08	6	1	0,1	58	580	5,50E+08
		2	0,1	63	630				0,1	54	540	
		3	0,1	88	880				0,1	53	530	
36	6	1	0,1	268	2680	2,46E+09	6	1	0,1	45	450	5,80E+08
		2	0,1	230	2300				0,1	64	640	
		3	0,1	240	2400				0,1	65	650	
48	7	1	0,1	69	690	5,97E+09	6	1	0,1	207	2070	2,08E+09
		2	0,1	54	540				0,1	208	2080	
		3	0,1	56	560				0,1			

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures



Nombre de spores dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de boues de levures



ANNEXES

EXPÉRIENCE 0 g/l boues levures boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 20 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	104	1040	1,04E+07						
		2	0,1	109	1090							
		3	0,1	99	990							
12	5	1	0,1	96	960	9,27E+07	5	1	0,1	0	0	6,67E+05
		2	0,1	84	840				0,1	1	10	
		3	0,1	98	980				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	15	150	2,37E+08	6	2	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	28	280				0,1	0	0	
		3	0,1	28	280				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	30	300	2,90E+08	6	1	0,1	26	260	2,93E+08
		2	0,1	29	290				0,1	29	290	
		3	0,1	28	280				0,1	33	330	
36	6	1	0,1	64	640	5,40E+08	6	1	0,1	46	460	3,23E+08
		2	0,1	52	520				0,1	30	300	
		3	0,1	46	460				0,1	21	210	
48	6	1	0,1	113	1130	1,84E+09	6	1	0,1	126	1260	1,27E+09
		2	0,1	151	1510				0,1	128	1280	
		3	0,1	288	2880				0,1			

EXPÉRIENCE 1 g/l boues levures boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 20 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	91	910	9,97E+06						
		2	0,1	107	1070							
		3	0,1	101	1010							
12	5	1	0,1	207	2070	2,01E+08	5	1	0,1	0	0	6,67E+05
		2	0,1	191	1910				0,1	1	10	
		3	0,1	205	2050				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	44	440	3,27E+08	6	2	0,1	0	0	3,67E+07
		2	0,1	37	370				0,1	8	80	
		3	0,1	17	170				0,1	3	30	
30	6	1	0,1	48	480	4,23E+08	6	1	0,1	15	150	1,10E+08
		2	0,1	40	400				0,1	15	150	
		3	0,1	39	390				0,1	3	30	
36	6	1	0,1	52	520	5,03E+08	6	1	0,1	30	300	3,13E+08
		2	0,1	58	580				0,1	33	330	
		3	0,1	41	410				0,1	31	310	
48	6	1	0,1	108	1080	1,06E+09	6	1	0,1	77	770	8,23E+08
		2	0,1	117	1170				0,1	102	1020	
		3	0,1	92	920				0,1	68	680	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 2 g/l boues levures boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 20 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	145	1450	1,36E+07						
		2	0,1	136	1360							
		3	0,1	126	1260							
12	5	1	0,1	163	1630	1,52E+08	5	1	0,1	0	0	3,33E+05
		2	0,1	125	1250				0,1	0	0	
		3	0,1	168	1680				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	18	180	1,97E+08	6	1	0,1	0	0	3,00E+07
		2	0,1	13	130				0,1	7	70	
		3	0,1	28	280				0,1	2	20	
30	6	1	0,1	25	250	3,07E+08	6	1	0,1	9	90	5,33E+07
		2	0,1	31	310				0,1	3	30	
		3	0,1	36	360				0,1	4	40	
36	6	1	0,1	73	730	6,27E+08	6	1	0,1	1	10	6,33E+07
		2	0,1	51	510				0,1	8	80	
		3	0,1	64	640				0,1	10	100	
48	6	1	0,1	74	740	8,20E+08	6	1	0,1	55	550	5,53E+08
		2	0,1	90	900				0,1	51	510	
		3	0,1	82	820				0,1	60	600	

EXPÉRIENCE 3 g/l boues levures boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 20 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	128	1280	1,19E+07						
		2	0,1	111	1110							
		3	0,1	118	1180							
12	5	1	0,1	160	1600	1,79E+08	5	1	0,1	12	120	5,67E+06
		2	0,1	183	1830				0,1	5	50	
		3	0,1	195	1950				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	25	250	1,87E+08	6	1	0,1	1	10	6,67E+06
		2	0,1	18	180				0,1	0	0	
		3	0,1	13	130				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	48	480	5,67E+08	6	1	0,1	4	40	2,33E+07
		2	0,1	61	610				0,1	1	10	
		3	0,1	61	610				0,1	2	20	
36	6	1	0,1	60	600	5,90E+08	6	1	0,1	41	410	4,23E+08
		2	0,1	61	610				0,1	43	430	
		3	0,1	56	560				0,1	43	430	
48	6	1	0,1	86	860	1,00E+09	6	1	0,1	97	970	8,57E+08
		2	0,1	123	1230				0,1	58	580	
		3	0,1	92	920				0,1	102	1020	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 4 g/l boues levures boues hydrolysées (35 g/l)

semaine du 20 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	105	1050	1,08E+07						
		2	0,1	107	1070							
		3	0,1	112	1120							
12	5	1	0,1	75	750	7,00E+07	5	1	0,1	2	20	1,00E+06
		2	0,1	70	700				0,1	0	0	
		3	0,1	65	650				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	30	300	2,87E+08	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	25	250				0,1	0	0	
		3	0,1	31	310				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	24	240	3,30E+08	6	1	0,1	5	50	2,00E+07
		2	0,1	36	360				0,1	1	10	
		3	0,1	39	390				0,1	0	0	
36	6	1	0,1	75	750	8,17E+08	6	1	0,1	12	120	1,23E+08
		2	0,1	88	880				0,1	12	120	
		3	0,1	82	820				0,1	13	130	
48	6	1	0,1	86	860	8,80E+08	6	1	0,1	70	700	6,47E+08
		2	0,1	84	840				0,1	68	680	
		3	0,1	94	940				0,1	56	560	

EXPÉRIENCE 5 g/l boues levures boues hydrolysées (35 g/l)

semaine du 20 mai 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	116	1160	1,02E+07						
		2	0,1	90	900							
		3	0,1	99	990							
12	5	1	0,1	89	890	1,10E+08	5	1	0,1	0	0	3,33E+05
		2	0,1	134	1340				0,1	0	0	
		3	0,1	108	1080				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	41	410	3,67E+08	6	1	0,1	0	0	6,67E+06
		2	0,1	35	350				0,1	1	10	
		3	0,1	34	340				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	54	540	5,23E+08	6	1	0,1	1	10	1,33E+07
		2	0,1	53	530				0,1	1	10	
		3	0,1	50	500				0,1	2	20	
36	6	1	0,1	84	840	7,37E+08	6	1	0,1	1	10	1,67E+07
		2	0,1	78	780				0,1	2	20	
		3	0,1	59	590				0,1	2	20	
48	6	1	0,1	114	1140	1,14E+09	6	1	0,1	37	370	3,50E+08
		2	0,1	102	1020				0,1	31	310	
		3	0,1	126	1260				0,1	37	370	

ANNEXES

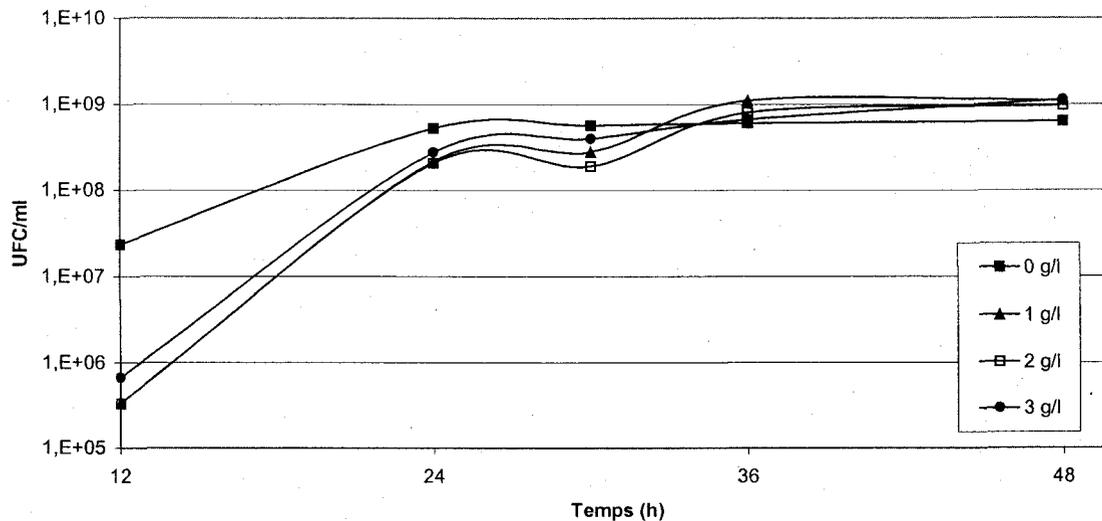
EXPÉRIENCE 1 g/l extrait de levures boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 17 juin 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	46	460	5,73E+06						
		2	0,1	47	470							
		3	0,1	79	790							
12	6	1	0,1	31	310	3,33E+08	6	1	0,1	2	20	2,00E+07
		2	0,1	37	370				0,1	2	20	
		3	0,1	32	320				0,1	2	20	
24	6	1	0,1	89	890	1,02E+09	6	1	0,1	2	20	2,33E+07
		2	0,1	112	1120				0,1	3	30	
		3	0,1	105	1050				0,1	2	20	
30	6	1	0,1	105	1050	1,08E+09	6	1	0,1	77	770	7,43E+08
		2	0,1	121	1210				0,1	74	740	
		3	0,1	99	990				0,1	72	720	
36	7	1	0,1			2,53E+10	7	1	0,1			2,06E+10
		2	0,1	207	2070				0,1	275	2750	
		3	0,1	299	2990				0,1	136	1360	
48	7	1	0,1	291	2910	2,92E+10	7	1	0,1	264	2640	2,51E+10
		2	0,1	293	2930				0,1	238	2380	
		3	0,1						0,1			

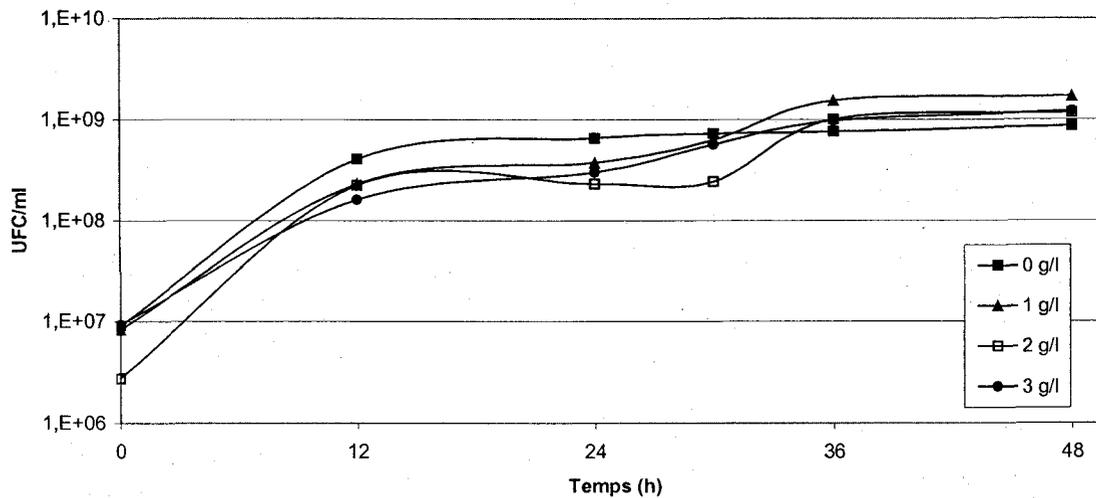
ANNEXE C

Résultats pour l'ajout de sulfate d'ammonium

Nombre de spores dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium



Nombre de cellules totales dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium



ANNEXES

EXPÉRIENCE 0 g/l sulfate d'ammonium boues non-hydrolysées (25 g/l)
 semaine du 2 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	91	910	9,03E+06						
		2	0,1	95	950							
		3	0,1	85	850							
12	6	1	0,1	72	720	4,03E+08	6	1	0,1	2	20	2,33E+07
		2	0,1	29	290				0,1	5	50	
		3	0,1	20	200				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	60	600	6,50E+08	6	1	0,1	55	550	5,30E+08
		2	0,1	68	680				0,1	54	540	
		3	0,1	67	670				0,1	50	500	
30	6	1	0,1	75	750	7,23E+08	6	1	0,1	41	410	5,70E+08
		2	0,1	70	700				0,1	61	610	
		3	0,1	72	720				0,1	69	690	
36	6	1	0,1	74	740	7,53E+08	6	1	0,1	55	550	6,05E+08
		2	0,1	80	800				0,1	66	660	
		3	0,1	72	720				0,1			
48	6	1	0,1	92	920	8,60E+08	6	1	0,1	67	670	6,33E+08
		2	0,1	87	870				0,1	62	620	
		3	0,1	79	790				0,1	61	610	

EXPÉRIENCE 1 g/l sulfate d'ammonium boues non-hydrolysées (25 g/l)
 semaine du 2 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	59	590	8,25E+06						
		2	0,1	106	1060							
		3	0,1	67								
12	5	1	0,1	224	2240	2,31E+08	5	1	0,1	0	0	3,33E+05
		2	0,1	231	2310				0,1	1	10	
		3	0,1	239	2390				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	42	420	3,73E+08	6	1	0,1	23	230	2,17E+08
		2	0,1	32	320				0,1	23	230	
		3	0,1	38	380				0,1	19	190	
30	6	1	0,1			6,25E+08	6	1	0,1	29	290	2,80E+08
		2	0,1	62	620				0,1	37	370	
		3	0,1	63	630				0,1	18	180	
36	7	1	0,1	18	180	1,53E+09	7	1	0,1	14	140	1,10E+09
		2	0,1	14	140				0,1	12	120	
		3	0,1	14	140				0,1	7	70	
48	7	1	0,1	15	150	1,70E+09	7	1	0,1	12	120	1,10E+09
		2	0,1	16	160				0,1	10	100	
		3	0,1	20	200				0,1	11	110	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 2 g/l sulfate d'ammonium boues non-hydrolysées (25 g/l)

semaine du 2 septembre 2002

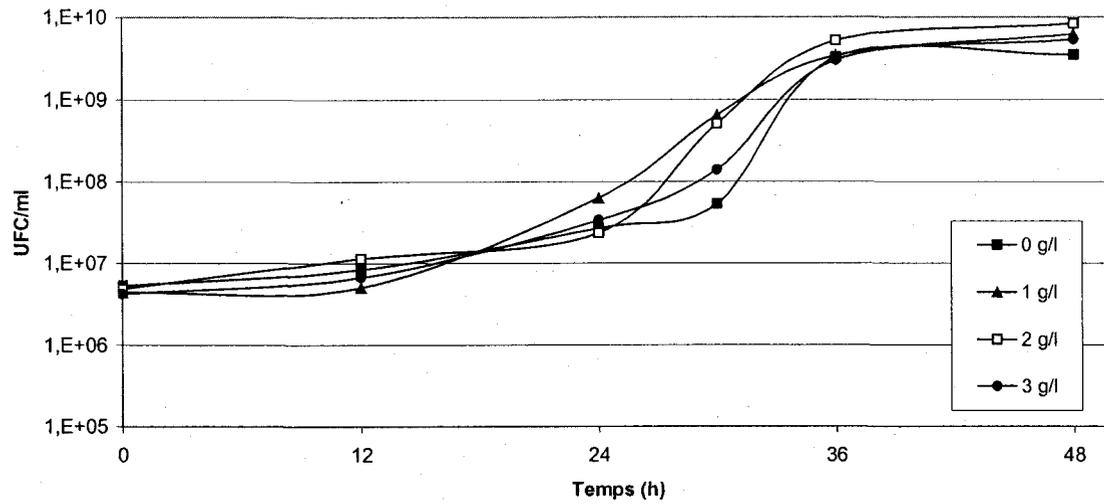
Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	12	120	2,75E+06						
		2	0,1	43	430							
		3	0,1	12								
12	5	1	0,1	220	2200	2,25E+08	5	1	0,1	0	0	3,33E+05
		2	0,1	222	2220				0,1	0	0	
		3	0,1	232	2320				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	23	230	2,30E+08	6	1	0,1	26	260	2,07E+08
		2	0,1	29	290				0,1	3	30	
		3	0,1	17	170				0,1	33	330	
30	6	1	0,1	29	290	2,43E+08	6	1	0,1	14	140	1,90E+08
		2	0,1	30	300				0,1	24	240	
		3	0,1	14	140				0,1	19	190	
36	7	1	0,1	9	90	1,00E+09	7	1	0,1	8	80	8,00E+08
		2	0,1	8	80				0,1	10	100	
		3	0,1	13	130				0,1	6	60	
48	7	1	0,1	14	140	1,17E+09	7	1	0,1	11	110	9,67E+08
		2	0,1	11	110				0,1	13	130	
		3	0,1	10	100				0,1	5	50	

EXPÉRIENCE 3 g/l sulfate d'ammonium boues non-hydrolysées (25 g/l)

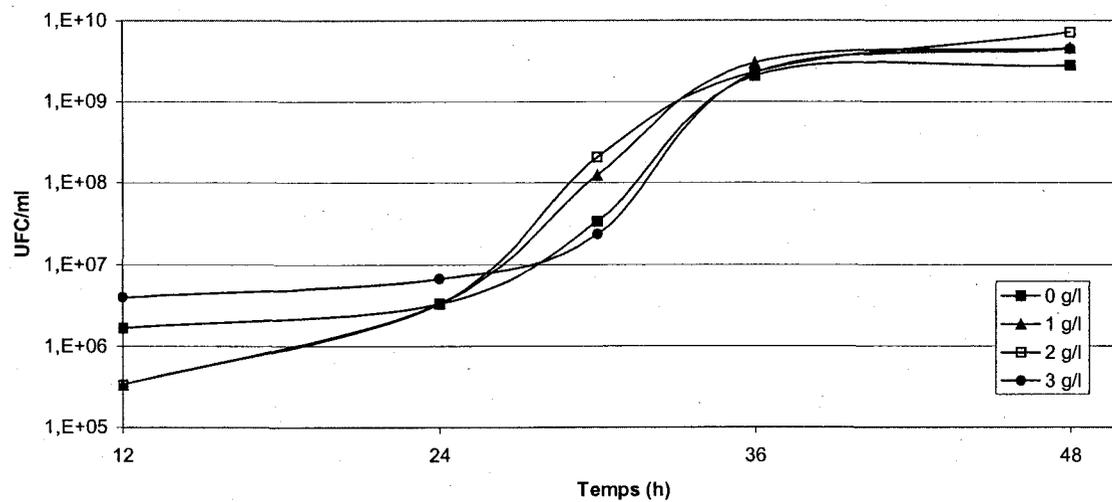
semaine du 2 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	86	880	9,25E+06						
		2	0,1	97	970							
		3	0,1	83								
12	5	1	0,1	161	1610	1,60E+08	5	1	0,1	0	0	6,67E+05
		2	0,1	158	1580				0,1	1	10	
		3	0,1	162	1620				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	32	320	3,00E+08	6	1	0,1	40	400	2,77E+08
		2	0,1	27	270				0,1	30	300	
		3	0,1	31	310				0,1	13	130	
30	6	1	0,1	54	540	5,63E+08	6	1	0,1	49	490	3,97E+08
		2	0,1	53	530				0,1	39	390	
		3	0,1	62	620				0,1	31	310	
36	7	1	0,1	9	90	9,67E+08	7	1	0,1	7	70	6,67E+08
		2	0,1	11	110				0,1	6	60	
		3	0,1	9	90				0,1	7	70	
48	7	1	0,1	12	120	1,20E+09	7	1	0,1	12	120	1,13E+09
		2	0,1	12	120				0,1	11	110	
		3	0,1	12	120				0,1	11	110	

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires hydrolysées (TTA) (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium



Nombre de spores dans des boues secondaires hydrolysées (TTA) (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de sulfate d'ammonium



ANNEXES

EXPÉRIENCE 0 g/l sulfate d'ammonium boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 26 août 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	54	540	5,25E+06						
		2	0,1	51	510							
		3	0,1	57								
12	5	1	0,1	13	130	8,33E+06	5	1	0,1	5	50	1,67E+06
		2	0,1	8	80				0,1	0	0	
		3	0,1	4	40				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	4	40	2,67E+07	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	3	30				0,1	0	0	
		3	0,1	1	10				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	9	90	5,33E+07	6	1	0,1	3	30	3,33E+07
		2	0,1	2	20				0,1	6	60	
		3	0,1	5	50				0,1	1	10	
36	7	1	0,1			3,25E+09	7	1	0,1	12	120	2,07E+09
		2	0,1	30	300				0,1	30	300	
		3	0,1	35	350				0,1	20	200	
48	7	1	0,1	34	340	3,50E+09	7	1	0,1	24	240	2,77E+09
		2	0,1	36	360				0,1	29	290	
		3	0,1						0,1	30	300	

EXPÉRIENCE 1 g/l sulfate d'ammonium boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 26 août 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	42	420	4,35E+06						
		2	0,1	45	450							
		3	0,1	50								
12	5	1	0,1	11	110	5,00E+06	5	1	0,1	0	0	3,33E+05
		2	0,1	3	30				0,1	0	0	
		3	0,1	1	10				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	10	100	6,33E+07	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	0	0				0,1	0	0	
		3	0,1	9	90				0,1	1	10	
30	6	1	0,1			6,50E+08	6	1	0,1	5	50	1,23E+08
		2	0,1	97	970				0,1	11	110	
		3	0,1	33	330				0,1	21	210	
36	7	1	0,1	34	340	3,40E+09	7	1	0,1	15	150	3,00E+09
		2	0,1	34	340				0,1	46	460	
		3	0,1	34	340				0,1	29	290	
48	7	1	0,1	64	640	6,20E+09	7	1	0,1	70	700	4,53E+09
		2	0,1	72	720				0,1	38	380	
		3	0,1	50	500				0,1	28	280	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 2 g/l sulfate d'ammonium boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 26 août 2002

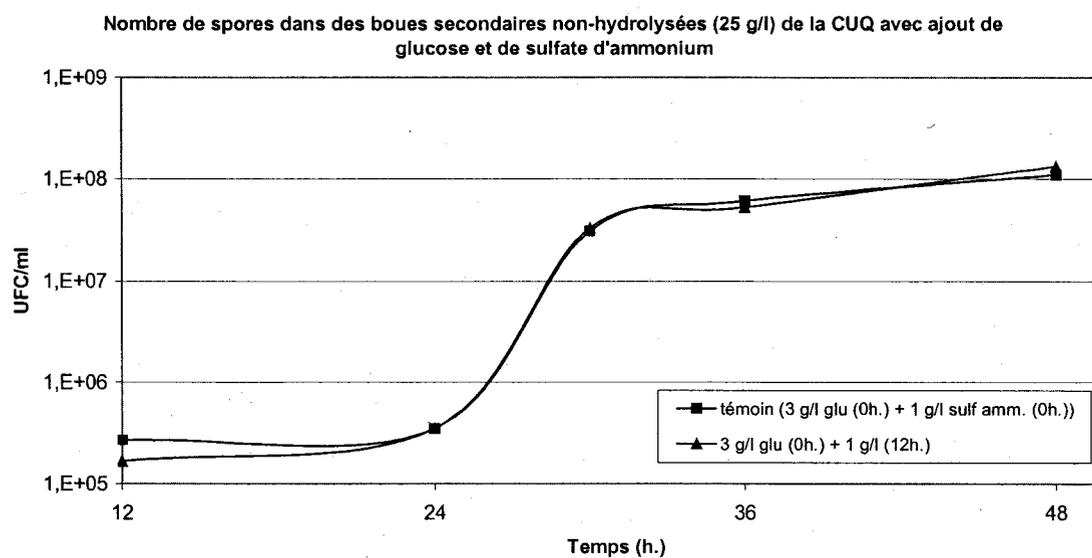
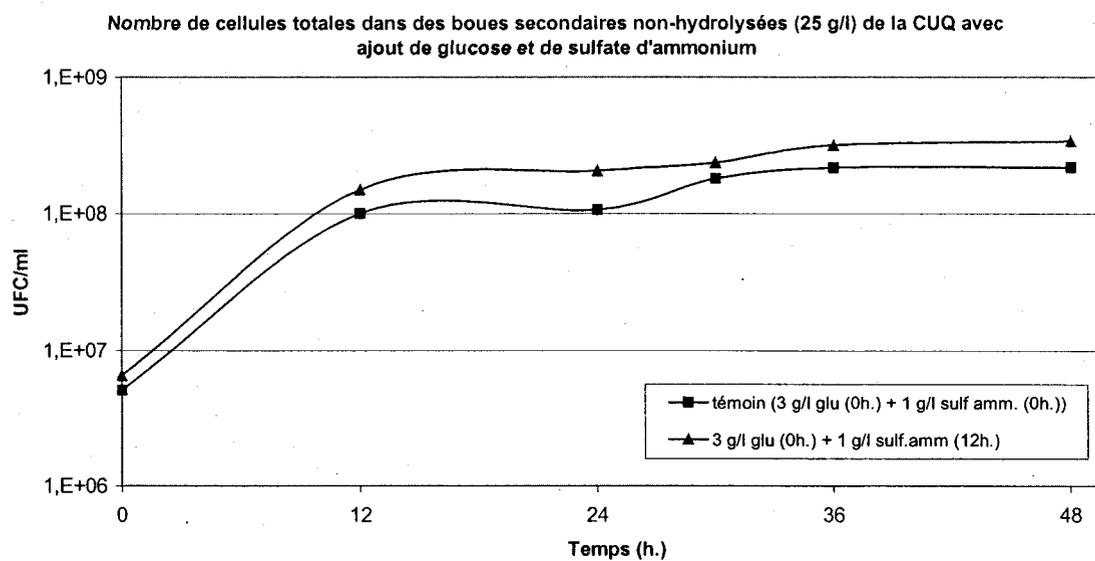
Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	47	470	4,85E+06						
		2	0,1	50	500							
		3	0,1	44								
12	5	1	0,1	12	120	1,13E+07	5	1	0,1	0	0	3,33E+05
		2	0,1	12	120				0,1	0	0	
		3	0,1	10	100				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	3	30	2,33E+07	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	2	20				0,1	0	0	
		3	0,1	2	20				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	92	920	5,13E+08	6	1	0,1	48	480	2,03E+08
		2	0,1	32	320				0,1	11	110	
		3	0,1	30	300				0,1	2	20	
36	7	1	0,1			5,20E+09	7	1	0,1	24	240	2,33E+09
		2	0,1	69	690				0,1	10	100	
		3	0,1	35	350				0,1	36	360	
48	7	1	0,1	52	520	8,30E+09	7	1	0,1	47	470	7,17E+09
		2	0,1	50	500				0,1	57	570	
		3	0,1	147	1470				0,1	111	1110	

EXPÉRIENCE 3 g/l sulfate d'ammonium boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 26 août 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	47	470	4,20E+06						
		2	0,1	37	370							
		3	0,1	56								
12	5	1	0,1	8	80	6,67E+06	5	1	0,1	6	60	4,00E+06
		2	0,1	0	0				0,1	0	0	
		3	0,1	12	120				0,1	6	60	
24	6	1	0,1	8	80	3,33E+07	6	1	0,1	0	0	6,67E+06
		2	0,1	1	10				0,1	1	10	
		3	0,1	1	10				0,1	1	10	
30	6	1	0,1	5	50	1,40E+08	6	1	0,1	3	30	2,33E+07
		2	0,1	30	300				0,1	1	10	
		3	0,1	7	70				0,1	3	30	
36	7	1	0,1	55	550	3,00E+09	7	1	0,1	51	510	2,23E+09
		2	0,1	17	170				0,1	12	120	
		3	0,1	18	180				0,1	4	40	
48	7	1	0,1	48	480	5,30E+09	7	1	0,1	44	440	4,50E+09
		2	0,1	54	540				0,1	51	510	
		3	0,1	57	570				0,1	40	400	

ANNEXE D

Résultats pour l'ajout de glucose et d'extraits de levures



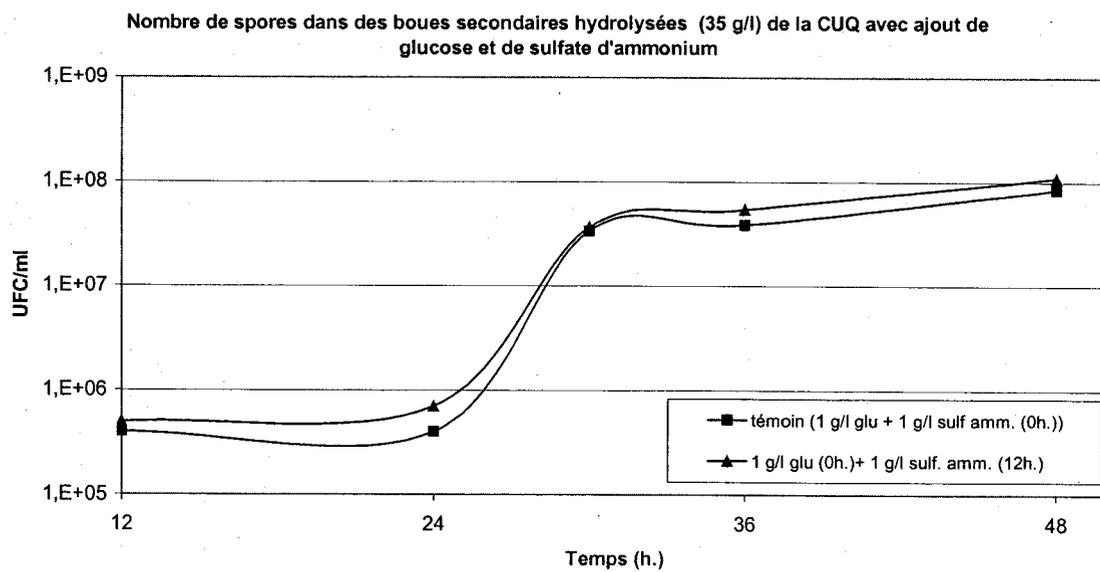
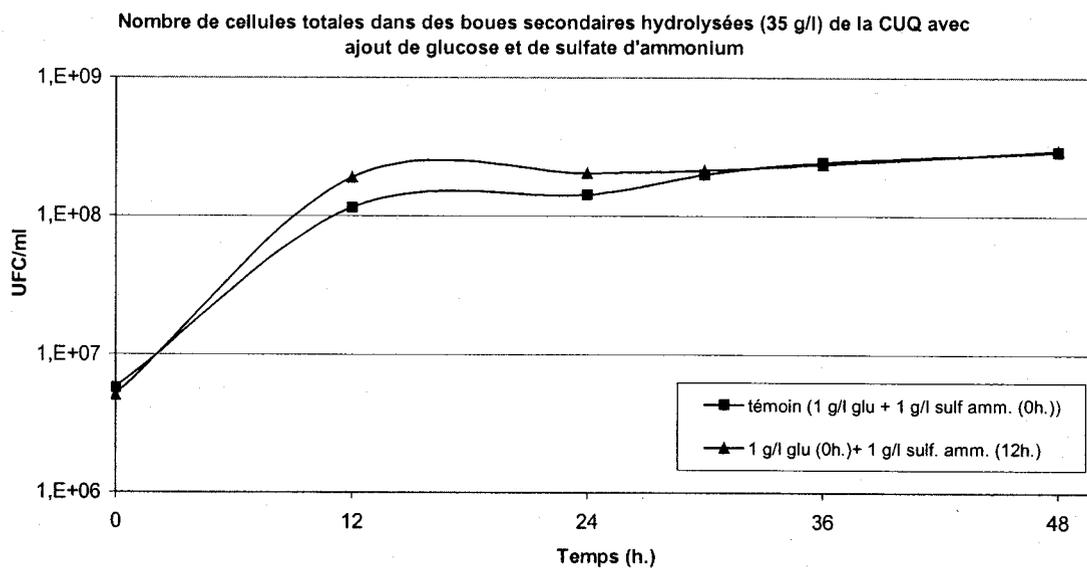
ANNEXES

EXPÉRIENCE 1 g/l glucose + 1 g/l sulfate d'ammonium au temps 0h. boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 11 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	52	520	5,10E+06						
		2	0,1	50	500							
		3	0,1	51								
12	6	1	0,1	9	90	1,00E+08	4	1	0,1	4	40	2,67E+05
		2	0,1	11	110				0,1	2	20	
		3	0,1	11					0,1	2	20	
24	6	1	0,1	8	80	1,07E+08	4	2	0,1	4	40	3,50E+05
		2	0,1	12	120				0,1	3	30	
		3	0,1	12	120				0,1	4		
30	6	1	0,1	14	140	1,80E+08	5	2	0,1	35	350	3,07E+07
		2	0,1	14	140				0,1	29	290	
		3	0,1	26	260				0,1	28	280	
36	6	1	0,1	23	230	2,17E+08	5	2	0,1	46	460	6,07E+07
		2	0,1	20	200				0,1	43	430	
		3	0,1	22	220				0,1	93	930	
48	6	1	0,1	20	200	2,20E+08	5	2	0,1	115	1150	1,10E+08
		2	0,1	26	260				0,1	102	1020	
		3	0,1	20	200				0,1	114	1140	

EXPÉRIENCE 1 g/l glucose au temps 0h. + 1 g/l sulfate d'ammonium au temps 12h. boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 11 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	54	540	6,50E+06						
		2	0,1	76	760							
		3	0,1	77								
12	6	1	0,1	14	140	1,50E+08	4	1	0,1	2	20	1,67E+05
		2	0,1	16	160				0,1	2	20	
		3	0,1	15					0,1	1	10	
24	6	1	0,1	22	220	2,07E+08	4	2	0,1	4	40	3,50E+05
		2	0,1	21	210				0,1	3	30	
		3	0,1	19	190				0,1	3		
30	6	1	0,1	28	280	2,37E+08	5	1	0,1	33	330	3,30E+07
		2	0,1	24	240				0,1	33	330	
		3	0,1	21	210				0,1	33	330	
36	6	1	0,1	31	310	3,17E+08	5	2	0,1	56	560	5,30E+07
		2	0,1	33	330				0,1	57	570	
		3	0,1	31	310				0,1	46	460	
48	6	1	0,1	34	340	3,40E+08	5	1	0,1	133	1330	1,33E+08
		2	0,1	36	360				0,1	128	1280	
		3	0,1	32	320				0,1	137	1370	



ANNEXES

EXPÉRIENCE 1 g/l glucose + 1 g/l sulfate d'ammonium au temps 0h. boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 11 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	62	620	5,70E+06						
		2	0,1	52	520							
		3	0,1	50								
12	6	1	0,1	11	110	1,15E+08	4	1	0,1	5	50	4,00E+05
		2	0,1	12	120				0,1	4	40	
		3	0,1	12					0,1	3	30	
24	6	1	0,1	12	120	1,43E+08	4	2	0,1	4	40	4,00E+05
		2	0,1	16	160				0,1	4	40	
		3	0,1	15	150				0,1	3		
30	6	1	0,1	22	220	2,00E+08	5	1	0,1	40	400	3,37E+07
		2	0,1	20	200				0,1	33	330	
		3	0,1	18	180				0,1	28	280	
36	6	1	0,1	20	200	2,43E+08	5	2	0,1	50	500	3,83E+07
		2	0,1	26	260				0,1	34	340	
		3	0,1	27	270				0,1	31	310	
48	6	1	0,1	28	280	2,90E+08	5	1	0,1	97	970	8,37E+07
		2	0,1	26	260				0,1	70	700	
		3	0,1	33	330				0,1	84	840	

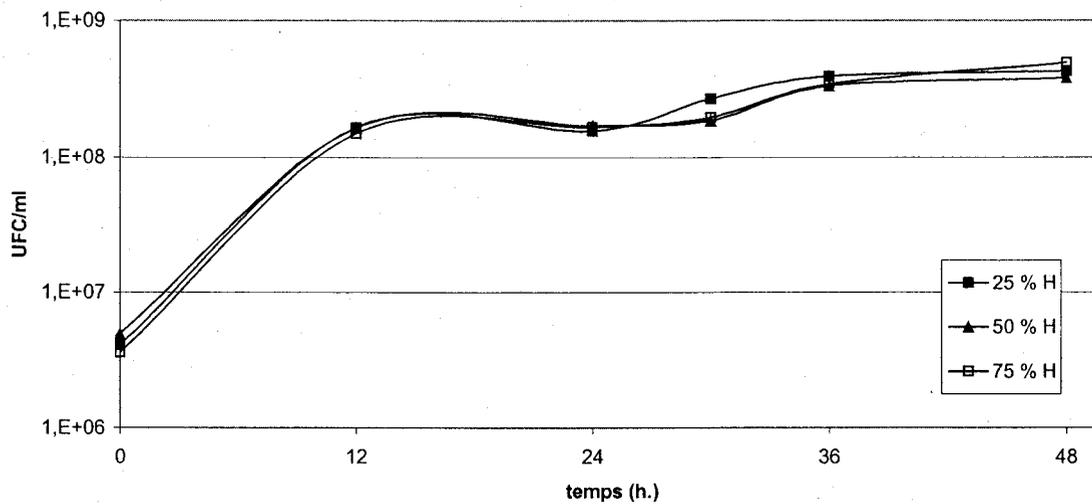
EXPÉRIENCE 1 g/l glucose au temps 0h. + 1 g/l sulfate d'ammonium au temps 12h. boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 11 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	52	520	5,05E+06						
		2	0,1	49	490							
		3	0,1	52								
12	6	1	0,1	24	240	1,90E+08	4	1	0,1	6	60	5,00E+05
		2	0,1	17	170				0,1	5	50	
		3	0,1	16	160				0,1	4	40	
24	6	1	0,1	22	220	2,03E+08	4	1	0,1	8	80	7,00E+05
		2	0,1	19	190				0,1	6	60	
		3	0,1	20	200				0,1	6		
30	6	1	0,1	22	220	2,13E+08	5	2	0,1	35	350	3,67E+07
		2	0,1	21	210				0,1	36	360	
		3	0,1	21	210				0,1	39	390	
36	6	1	0,1	35	350	2,37E+08	5	1	0,1	60	600	5,37E+07
		2	0,1	18	180				0,1	52	520	
		3	0,1	18	180				0,1	49	490	
48	6	1	0,1	32	320	2,97E+08	5	1	0,1	102	1020	1,08E+08
		2	0,1	28	280				0,1	109	1090	
		3	0,1	29	290				0,1	113	1130	

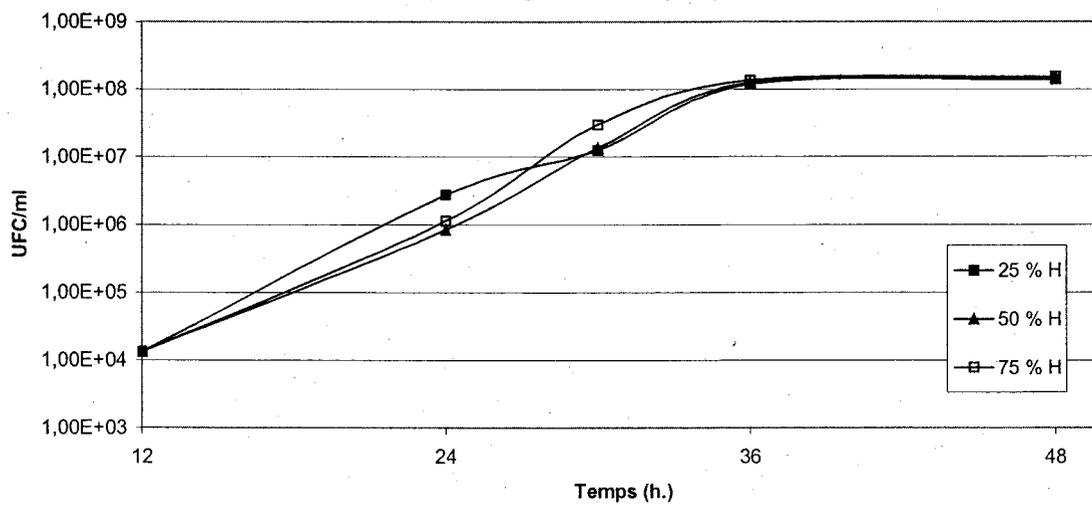
ANNEXE E

Résultats pour le mélange de différents pourcentages de boues
hydrolysées à des boues non-hydrolysées

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires non-hydrolysées de la CUQ avec ajout de différents pourcentages de boues hydrolysées



Nombre de spores dans des boues secondaires non-hydrolysées de la CUQ avec ajout de différents pourcentages de boues hydrolysées



ANNEXES

EXPÉRIENCE 25 % boues hydrolysées + 75 % boues non-hydrolysées

semaine du 23 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	55	550	4,07E+06						
		2	0,1	28	280							
		3	0,1	39	390							
12	5	1	0,1	173	1730	1,66E+08	3	1	0,1	1	10	1,33E+04
		2	0,1	163	1630				0,1	2	20	
		3	0,1	161	1610				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	15	150	1,57E+08	4	1	0,1	29	290	2,70E+06
		2	0,1	16	160				0,1	27	270	
		3	0,1	16	160				0,1	25	250	
30	6	1	0,1	27	270	2,70E+08	5	1	0,1	8	80	1,23E+07
		2	0,1	26	260				0,1	19	190	
		3	0,1	28	280				0,1	10	100	
36	6	1	0,1	43	430	3,93E+08	5	1	0,1	127	1270	1,18E+08
		2	0,1	40	400				0,1	108	1080	
		3	0,1	35	350				0,1			
48	6	1	0,1	35	350	4,27E+08	5	1	0,1	132	1320	1,38E+08
		2	0,1	54	540				0,1	140	1400	
		3	0,1	39	390				0,1	142	1420	

EXPÉRIENCE 50 % boues hydrolysées + 50 % boues non-hydrolysées

semaine du 23 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	49	490	4,93E+06						
		2	0,1	49	490							
		3	0,1	50	500							
12	5	1	0,1	150	1500	1,64E+08	3	1	0,1	2	20	1,33E+04
		2	0,1	172	1720				0,1	1	10	
		3	0,1	170	1700				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	14	140	1,70E+08	4	1	0,1	12	120	8,33E+05
		2	0,1	15	150				0,1	9	90	
		3	0,1	22	220				0,1	4	40	
30	6	1	0,1	18	180	1,87E+08	6	1	0,1	2	20	1,33E+07
		2	0,1	21	210				0,1	1	10	
		3	0,1	17	170				0,1	1	10	
36	6	1	0,1	36	360	3,33E+08	5	1	0,1	111	1110	1,23E+08
		2	0,1	30	300				0,1	137	1370	
		3	0,1	34	340				0,1	122	1220	
48	6	1	0,1	36	360	3,80E+08	5	1	0,1	130	1300	1,46E+08
		2	0,1	39	390				0,1	158	1580	
		3	0,1	39	390				0,1	149	1490	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 75 % boues hydrolysées + 25 % boues non-hydrolysées

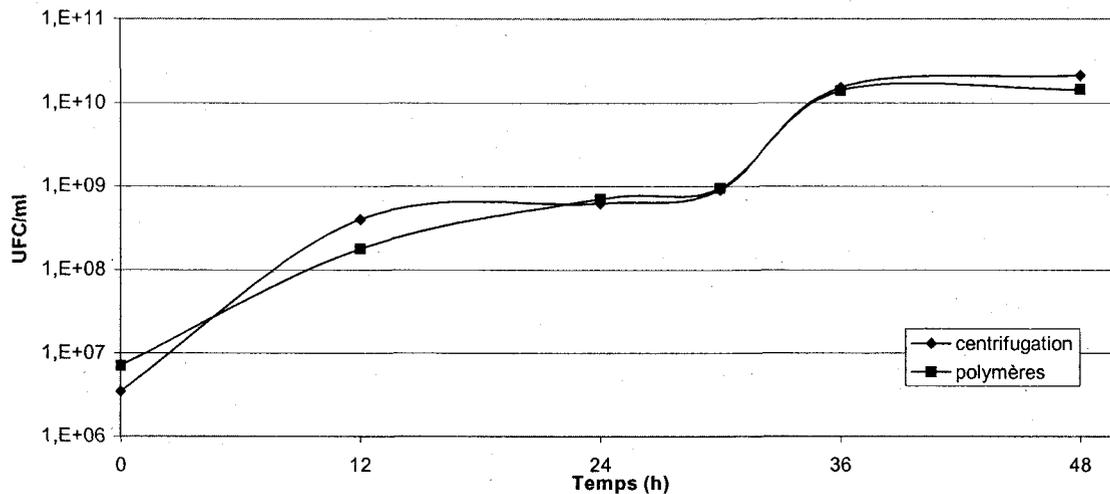
semaine du 23 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	38	380	3,60E+06						
		2	0,1	35	350							
		3	0,1	35	350							
12	5	1	0,1	145	1450	1,49E+08	3	1	0,1	1	10	1,33E+04
		2	0,1	151	1510				0,1	2	20	
		3	0,1	151	1510				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	15	150	1,67E+08	4	1	0,1	12	120	1,13E+06
		2	0,1	16	160				0,1	11	110	
		3	0,1	19	190				0,1	11	110	
30	6	1	0,1	21	210	1,97E+08	6	1	0,1	2	20	3,00E+07
		2	0,1	16	160				0,1	3	30	
		3	0,1	22	220				0,1	4	40	
36	6	1	0,1	36	360	3,43E+08	5	1	0,1	140	1400	1,33E+08
		2	0,1	25	250				0,1	130	1300	
		3	0,1	42	420				0,1	130	1300	
48	6	1	0,1	56	560	4,93E+08	5	1	0,1	143	1430	1,52E+08
		2	0,1	43	430				0,1	160	1600	
		3	0,1	49	490				0,1	152	1520	

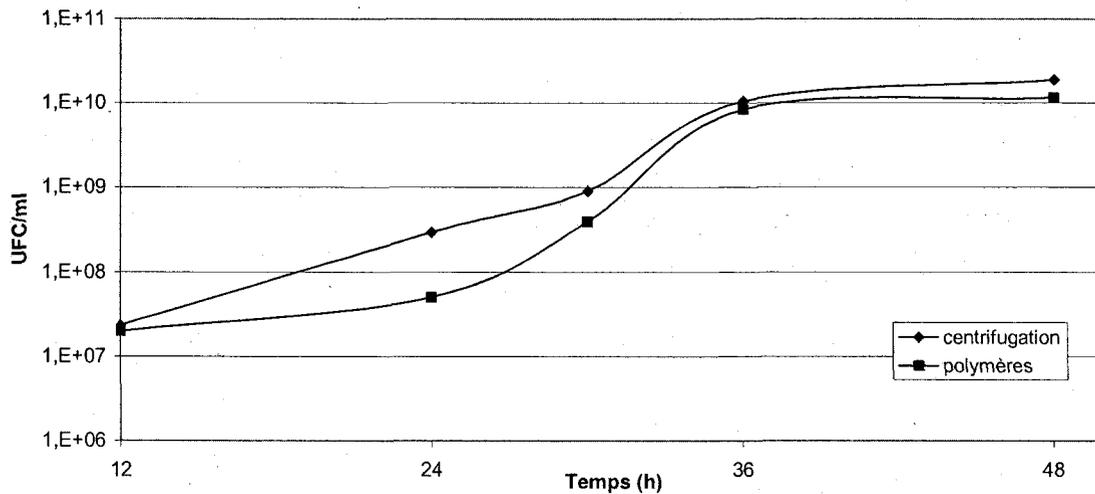
ANNEXE F

Résultats pour les boues épaissies par centrifugation et par l'ajout
de polymères

Nombre de cellules totales dans des boues épaissies par centrifugation et par l'ajout de polymères (30 g/l)



Nombre de spores totales dans des boues épaissies par centrifugation et par l'ajout de polymères (30 g/l)



ANNEXES

EXPÉRIENCE boues centrifugées (30 g/l)

semaine du 22 juillet 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	34	340	3,43E+06						
		2	0,1	38	380							
		3	0,1	31	310							
12	6	1	0,1	24	240	4,00E+08	6	1	0,1	3	30	2,33E+07
		2	0,1	34	340				0,1	1	10	
		3	0,1	62	620				0,1	3	30	
24	6	1	0,1	68	680	6,20E+08	6	2	0,1	23	230	2,90E+08
		2	0,1	56	560				0,1			
		3	0,1	62	620				0,1	35	350	
30	6	1	0,1	99	990	9,07E+08	6	1	0,1	89	890	8,90E+08
		2	0,1	91	910				0,1			
		3	0,1	82	820				0,1			
36	7	1	0,1	131	1310	1,53E+10	7	1	0,1	117	1170	1,03E+10
		2	0,1	170	1700				0,1	94	940	
		3	0,1	158	1580				0,1	99	990	
48	7	1	0,1	207	2070	2,13E+10	7	1	0,1			1,87E+10
		2	0,1	193	1930				0,1	182	1820	
		3	0,1	239	2390				0,1	191	1910	

EXPÉRIENCE boues + ajout de polymères (30 g/l)

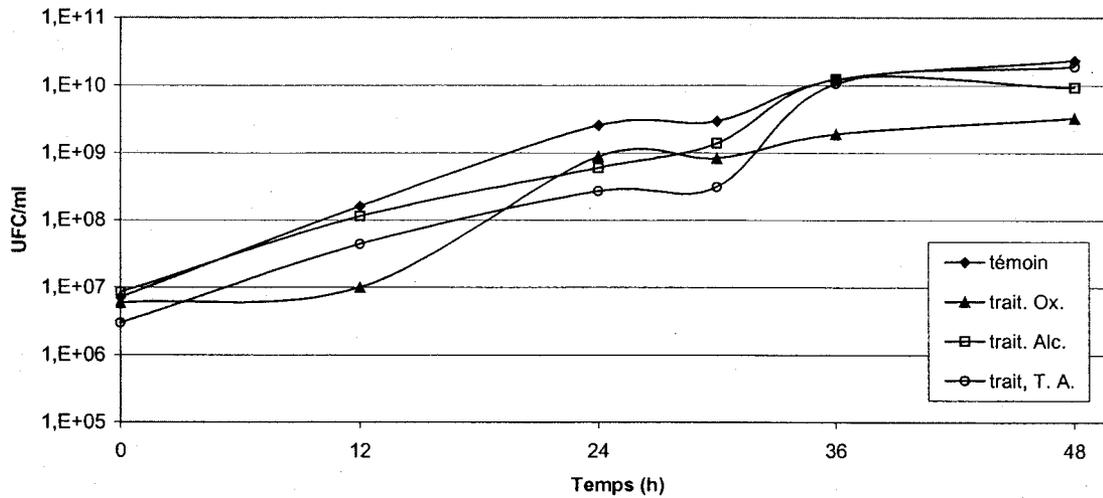
semaine du 29 juillet 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	78	780	7,03E+06						
		2	0,1	71	710							
		3	0,1	62	620							
12	6	1	0,1	14	140	1,77E+08	6	1	0,1	2	20	2,00E+07
		2	0,1	22	220				0,1	2	20	
		3	0,1	17	170				0,1	2	20	
24	6	1	0,1	67	670	7,00E+08	6	1	0,1	6	60	5,00E+07
		2	0,1	66	660				0,1	7	70	
		3	0,1	77	770				0,1	2	20	
30	6	1	0,1	87	870	9,50E+08	6	1	0,1	46	460	3,90E+08
		2	0,1	105	1050				0,1	34	340	
		3	0,1	93	930				0,1	37	370	
36	7	1	0,1	125	1250	1,39E+10	7	1	0,1	81	810	8,23E+09
		2	0,1	168	1680				0,1	87	870	
		3	0,1	125	1250				0,1	79	790	
48	7	1	0,1	138	1380	1,46E+10	7	1	0,1	118	1180	1,15E+10
		2	0,1	151	1510				0,1	102	1020	
		3	0,1	149	1490				0,1	125	1250	

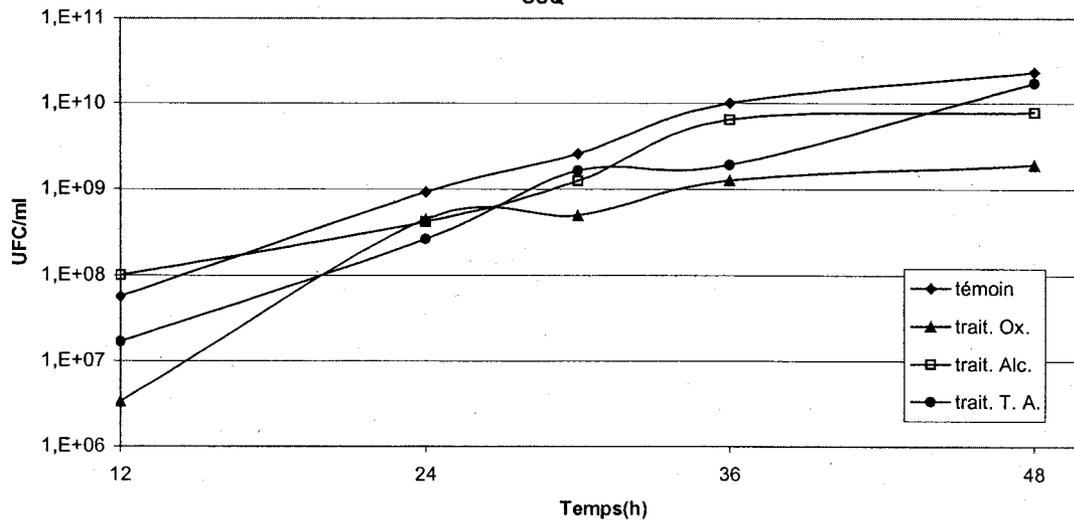
ANNEXE G

Résultats pour le surnageant des boues hydrolysées

Nombre de cellules totales dans le surnageant de boues secondaires de la CUQ hydrolysées (35 g/l)



Nombre de spores totales dans le surnageant de boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ



ANNEXES

EXPÉRIENCE boues non-hydrolysées SURNAGEANT (témoin : centrifugation + autoclavage)

semaine du 8 juillet 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	78	780	7,10E+06						
		2	0,1	75	750							
		3	0,1	80	800							
12	6	1	0,1	15	150	1,60E+08	6	1	0,1	9	90	5,67E+07
		2	0,1	18	180				0,1	0	0	
		3	0,1	15	150				0,1	8	80	
24	6	1	0,1	253	2530	2,56E+09	6	1	0,1	120	1200	9,23E+08
		2	0,1	282	2820				0,1	62	620	
		3	0,1	234	2340				0,1	95	950	
30	6	1	0,1	292	2920	2,94E+09	6	2	0,1	250	2500	2,59E+09
		2	0,1	293	2930				0,1	274	2740	
		3	0,1	297	2970				0,1	253	2530	
36	7	1	0,1	138	1380	1,23E+10	7	1	0,1	105	1050	1,00E+10
		2	0,1	128	1280				0,1	108	1080	
		3	0,1	104	1040				0,1	88	880	
48	7	1	0,1	239	2390	2,34E+10	7	2	0,1	254	2540	2,30E+10
		2	0,1	230	2300				0,1	193	1930	
		3	0,1	234	2340				0,1	244	2440	

EXPÉRIENCE boues hydrolysées SURNAGEANT traitement oxydatif (0,03 ml/g MES H2O2 30% v/v)

semaine du 1 juillet 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	64	640	5,90E+06						
		2	0,1	49	490							
		3	0,1	64	640							
12	6	1	0,1	0	0	1,00E+07	6	1	0,1	0	0	3,33E+06
		2	0,1	2	20				0,1	1	10	
		3	0,1	1	10				0,1	0	0	
24	6	1	0,1	155	1550	8,77E+08	6	2	0,1	87	870	4,47E+08
		2	0,1	69	690				0,1	24	240	
		3	0,1	39	390				0,1	23	230	
30	6	1	0,1	58	580	4,15E+08	6	2	0,1	40	400	3,00E+08
		2	0,1	25	250				0,1	20	200	
		3	0,1						0,1			
36	7	1	0,1	28	280	1,90E+09	7	1	0,1	23	230	1,27E+09
		2	0,1	18	180				0,1	10	100	
		3	0,1	11	110				0,1	5	50	
48	7	1	0,1	18	180	3,27E+09	7	2	0,1	25	250	1,93E+09
		2	0,1	15	150				0,1	23	230	
		3	0,1	65	650				0,1	10	100	

EXPÉRIENCE boues hydrolysées SURNAGEANT traitement alcalin (pH 10 24h)

semaine du 8 juillet 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	79	790	8,43E+06						
		2	0,1	86	860							
		3	0,1	88	880							
12	6	1	0,1	11	110	1,13E+08	6	1	0,1			1,00E+08
		2	0,1	12	120				0,1	14	140	
		3	0,1	11	110				0,1	6	60	
24	6	1	0,1	55	550	6,00E+08	6	1	0,1	44	440	4,20E+08
		2	0,1	49	490				0,1	39	390	
		3	0,1	76	760				0,1	43	430	
30	6	1	0,1	143	1430	1,39E+09	6	1	0,1	131	1310	1,26E+09
		2	0,1	134	1340				0,1	126	1260	
		3	0,1	141	1410				0,1	120	1200	
36	7	1	0,1	150	1500	1,24E+10	7	1	0,1	70	700	6,40E+09
		2	0,1	145	1450				0,1	69	690	
		3	0,1	78	780				0,1	53	530	
48	7	1	0,1	77	770	9,43E+09	7	1	0,1	80	800	7,80E+09
		2	0,1	120	1200				0,1	78	780	
		3	0,1	86	860				0,1	76	760	

EXPÉRIENCE boues hydrolysées SURNAGEANT traitement thermique + alcalin (140°C)

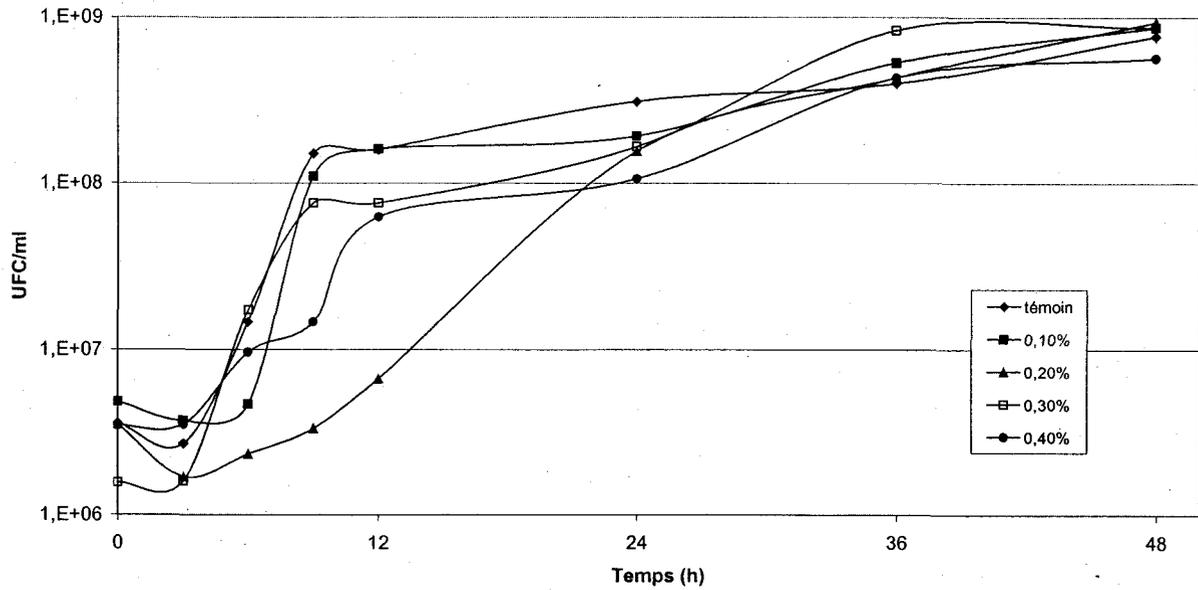
semaine du 8 juillet 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	33	330	2,93E+06						
		2	0,1	25	250							
		3	0,1	30	300							
12	6	1	0,1	5	50	4,33E+07	6	1	0,1	2	20	1,67E+07
		2	0,1	6	60				0,1	2	20	
		3	0,1	2	20				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	22	220	2,67E+08	6	1	0,1	27	270	2,63E+08
		2	0,1	28	280				0,1	21	210	
		3	0,1	30	300				0,1	31	310	
30	6	1	0,1	12	120	1,90E+08	6	1	0,1	148	1480	1,65E+09
		2	0,1	20	200				0,1	158	1580	
		3	0,1	25	250				0,1	188	1880	
36	7	1	0,1	113	1130	1,06E+10	7	1	0,1	19	190	1,93E+09
		2	0,1	109	1090				0,1	24	240	
		3	0,1	96	960				0,1	15	150	
48	7	1	0,1	157	1570	1,89E+10	7	1	0,1	164	1640	1,71E+10
		2	0,1	207	2070				0,1	176	1760	
		3	0,1	204	2040				0,1	174	1740	

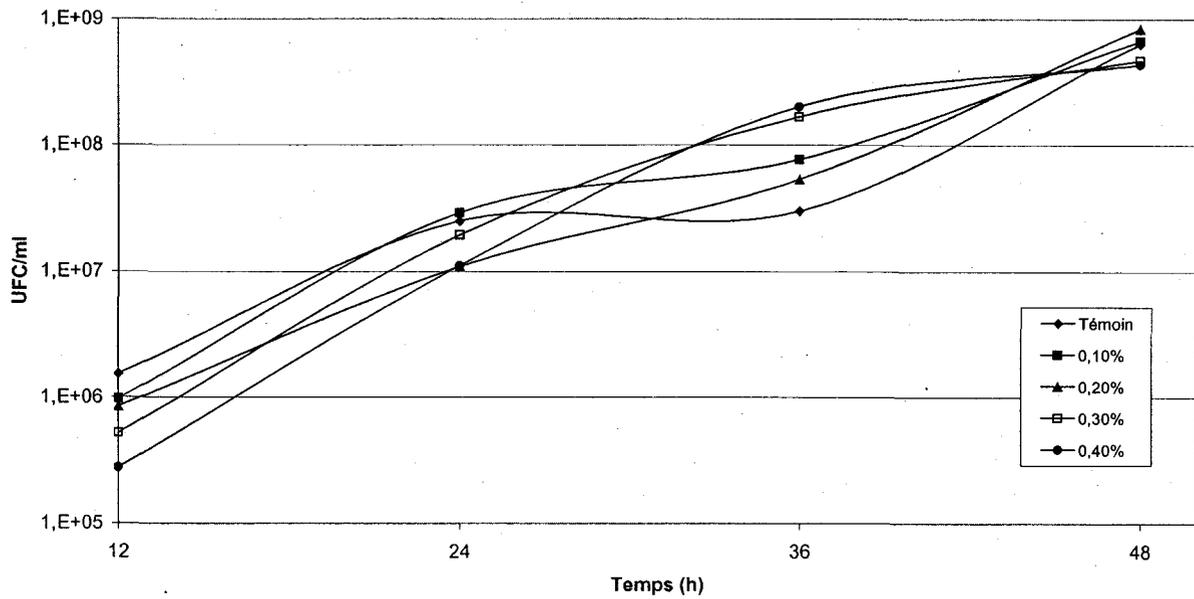
ANNEXE H

Résultats pour l'ajout de Tween 80

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de Tween 80



Nombre de spores dans des boues secondaires non-hydrolysées (25 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de Tween 80



ANNEXES

EXPÉRIENCE Témoin boues non-hydrolysées (25 g/l)

semaine du 30 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	39	390	3,60E+06							
		2	0,1	37	370								
		3	0,1	32	320								
3	4	1	0,1	23	230	2,70E+06							
		2	0,1	23	230								
		3	0,1	35	350								
6	5	1	0,1	13	130	1,47E+07							
		2	0,1	21	210								
		3	0,1	10	100								
9	5	1	0,1	153	1530	1,51E+08							
		2	0,1	147	1470								
		3	0,1	154	1540								
12	5	1	0,1	184	1840	1,61E+08	3	1	0,1	141	1410	1,53E+06	
		2	0,1	152	1520				2	0,1	166		1660
		3	0,1	146	1460				3	0,1	153		1530
24	6	1	0,1	35	350	3,13E+08	4	1	0,1	213	2130	2,49E+07	
		2	0,1	47	470				2	0,1	280		2800
		3	0,1	12	120				3	0,1	254		2540
36	7	1	0,1	5	50	4,00E+08	6	1	0,1	2	20	3,00E+07	
		2	0,1	4	40				2	0,1	4		40
		3	0,1	3	30				3	0,1	3		30
48	7	1	0,1	7	70	7,67E+08	7	1	0,1	3	30	6,33E+08	
		2	0,1	3	30				2	0,1	6		60
		3	0,1	13	130				3	0,1	10		100

EXPÉRIENCE 0,1 % Tween 80 boues non-hydrolysées (25 g/l)

semaine du 30 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	61	610	4,83E+06							
		2	0,1	40	400								
		3	0,1	44	440								
3	4	1	0,1	20	200	3,70E+06							
		2	0,1	45	450								
		3	0,1	46	460								
6	5	1	0,1	1	10	1,33E+06							
		2	0,1	1	10								
		3	0,1	2	20								
9	5	1	0,1	109	1090	1,10E+08							
		2	0,1	107	1070								
		3	0,1	115	1150								
12	5	1	0,1	162	1620	1,61E+08	3	1	0,1	77	770	9,73E+05	
		2	0,1	171	1710				2	0,1	112		1120
		3	0,1	151	1510				3	0,1	103		1030
24	6	1	0,1	17	170	1,93E+08	4	1	0,1	290	2900	2,90E+07	
		2	0,1	16	160				2	0,1	297		2970
		3	0,1	25	250				3	0,1	283		2830
36	7	1	0,1	5	50	5,33E+08	6	1	0,1	8	80	7,67E+07	
		2	0,1	6	60				2	0,1	7		70
		3	0,1	5	50				3	0,1	8		80
48	7	1	0,1	12	120	8,67E+08	7	1	0,1	6	60	6,67E+08	
		2	0,1	7	70				2	0,1	7		70
		3	0,1	7	70				3	0,1	7		70

ANNEXES

EXPÉRIENCE 0,2 % Tween 80 boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 30 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	45	450	3,53E+06							
		2	0,1	24	240								
		3	0,1	37	370								
3	4	1	0,1	19	190	1,70E+06							
		2	0,1	15	150								
		3	0,1	17	170								
6	5	1	0,1	4	40	2,33E+06							
		2	0,1	2	20								
		3	0,1	1	10								
9	5	1	0,1	7	70	3,33E+06							
		2	0,1	2	20								
		3	0,1	1	10								
12	5	1	0,1	6	60	6,67E+06	3	1	0,1	90	900	8,43E+05	
		2	0,1	6	60				2	0,1	84		840
		3	0,1	8	80				3	0,1	79		790
24	6	1	0,1	19	190	1,57E+08	4	1	0,1	120	1200	1,09E+07	
		2	0,1	16	160				2	0,1	97		970
		3	0,1	12	120				3	0,1	109		1090
36	7	1	0,1	7	70	4,33E+08	6	1	0,1	6	60	5,33E+07	
		2	0,1	4	40				2	0,1	3		30
		3	0,1	2	20				3	0,1	7		70
48	7	1	0,1	7	70	9,33E+08	7	1	0,1	11	110	8,33E+08	
		2	0,1	15	150				2	0,1	7		70
		3	0,1	6	60				3	0,1	7		70

EXPÉRIENCE 0,3 % Tween 80 boues non-hydrolysées (25 g/l)
semaine du 6 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	8	80	1,57E+06							
		2	0,1	26	260								
		3	0,1	13	130								
3	4	1	0,1	10	100	1,60E+06							
		2	0,1	10	100								
		3	0,1	28	280								
6	5	1	0,1	17	170	1,73E+07							
		2	0,1	19	190								
		3	0,1	16	160								
9	5	1	0,1	76	760	7,60E+07							
		2	0,1	77	770								
		3	0,1	75	750								
12	5	1	0,1	82	820	7,60E+07	3	1	0,1	60	600	5,20E+05	
		2	0,1	80	800				2	0,1	46		460
		3	0,1	66	660				3	0,1	50		500
24	6	1	0,1	19	190	1,67E+08	4	1	0,1	210	2100	1,93E+07	
		2	0,1	13	130				2	0,1	187		1870
		3	0,1	18	180				3	0,1	183		1830
36	7	1	0,1	11	110	8,33E+08	7	1	0,1	3	30	1,67E+08	
		2	0,1	8	80				2	0,1	1		10
		3	0,1	6	60				3	0,1	1		10
48	7	1	0,1	7	70	8,67E+08	7	1	0,1	8	80	4,67E+08	
		2	0,1	7	70				2	0,1	4		40
		3	0,1	12	120				3	0,1	2		20

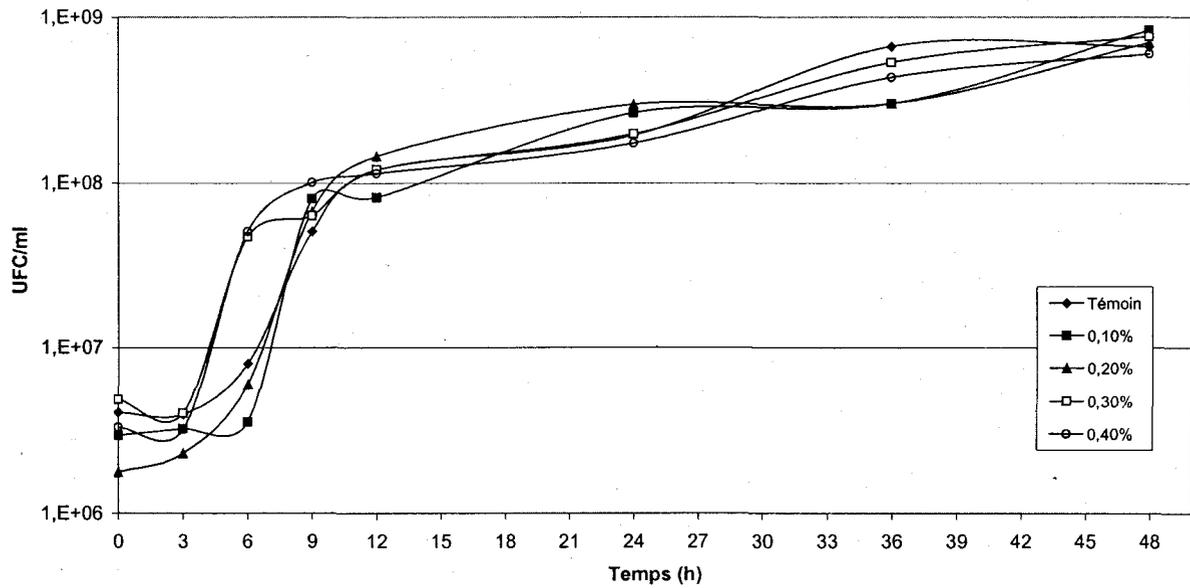
ANNEXES

EXPÉRIENCE 0,4 % Tween 80 boues non-hydrolysées (25 g/l)

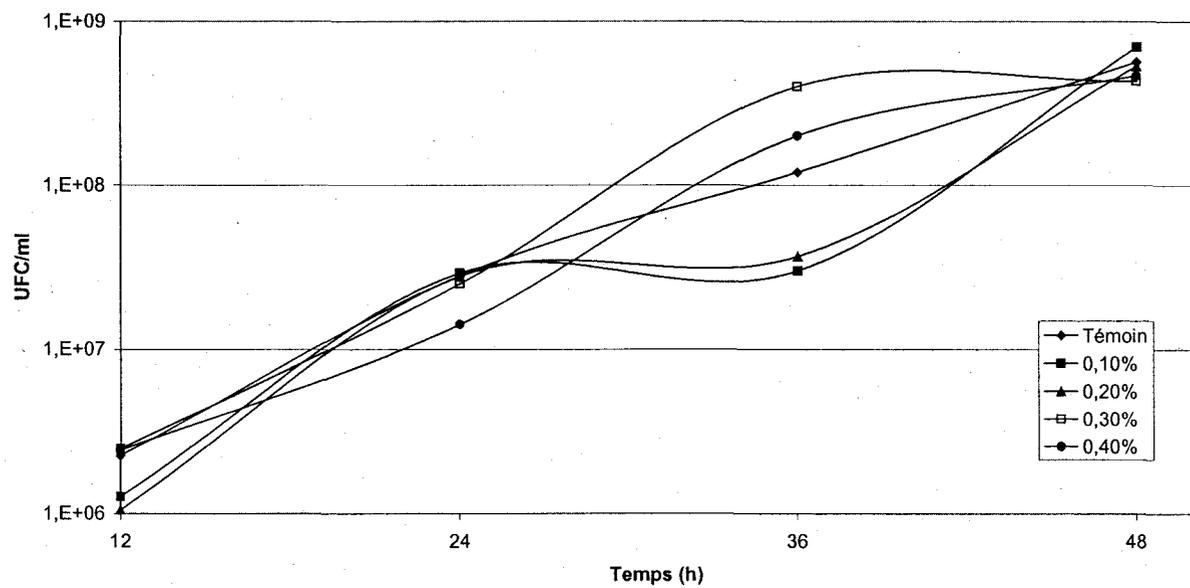
semaine du 6 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	33	330	3,47E+06							
		2	0,1	34	340								
		3	0,1	37	370								
3	4	1	0,1	35	350	3,53E+06							
		2	0,1	36	360								
		3	0,1	35	350								
6	5	1	0,1	10	100	9,67E+06							
		2	0,1	10	100								
		3	0,1	9	90								
9	5	1	0,1	15	150	1,47E+07							
		2	0,1	16	160								
		3	0,1	13	130								
12	5	1	0,1	56	560	6,27E+07	3	1	0,1	29	290	2,77E+05	
		2	0,1	65	650				2	0,1	27		270
		3	0,1	67	670				3	0,1	27		270
24	6	1	0,1	6	60	1,07E+08	4	1	0,1	120	1200	1,11E+07	
		2	0,1	8	80				2	0,1	102		1020
		3	0,1	18	180				3	0,1	111		1110
36	7	1	0,1	6	60	4,33E+08	7	2	0,1	3	30	2,00E+08	
		2	0,1	4	40				2	0,1	1		10
		3	0,1	3	30				3	0,1	2		20
48	7	1	0,1	7	70	5,67E+08	7	1	0,1	8	80	4,33E+08	
		2	0,1	6	60				2	0,1	3		30
		3	0,1	4	40				3	0,1	2		20

Nombre de cellules totales dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de Tween 80



Nombre de spores dans des boues secondaires hydrolysées (35 g/l) de la CUQ avec ajout de différentes concentrations de Tween 80



ANNEXES

EXPÉRIENCE Témoin boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 30 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	45	450	4,07E+06							
		2	0,1	50	500								
		3	0,1	27	270								
3	4	1	0,1	36	360	3,97E+06							
		2	0,1	35	350								
		3	0,1	48	480								
6	5	1	0,1	17	170	8,00E+06							
		2	0,1	5	50								
		3	0,1	2	20								
9	5	1	0,1	51	510	5,10E+07							
		2	0,1	57	570								
		3	0,1	45	450								
12	5	1	0,1	123	1230	1,19E+08	3	1	0,1	207	2070	2,26E+06	
		2	0,1	116	1160				2	0,1	241		2410
		3	0,1	119	1190				3	0,1	230		2300
24	6	1	0,1	19	190	1,93E+08	4	1	0,1	271	2710	2,79E+07	
		2	0,1	18	180				2	0,1	283		2830
		3	0,1	21	210				3	0,1	282		2820
36	7	1	0,1	13	130	6,67E+08	6	1	0,1	13	130	1,20E+08	
		2	0,1	4	40				2	0,1	13		130
		3	0,1	3	30				3	0,1	10		100
48	7	1	0,1	8	80	6,67E+08	7	1	0,1	6	60	5,67E+08	
		2	0,1	7	70				2	0,1	3		30
		3	0,1	5	50				3	0,1	8		80

EXPÉRIENCE 0,1 % Tween 80 boues hydrolysées (35 g/l)
semaine du 30 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	23	230	2,95E+06							
		2	0,1	36	360								
		3	0,1										
3	4	1	0,1	29	290	3,23E+06							
		2	0,1	30	300								
		3	0,1	38	380								
6	5	1	0,1	2	20	1,67E+06							
		2	0,1	2	20								
		3	0,1	1	10								
9	5	1	0,1	77	770	8,07E+07							
		2	0,1	69	690								
		3	0,1	96	960								
12	5	1	0,1	86	860	8,20E+07	3	1	0,1	130	1300	1,27E+06	
		2	0,1	74	740				2	0,1	138		1380
		3	0,1	86	860				3	0,1	112		1120
24	6	1	0,1	22	220	2,63E+08	4	1	0,1	293	2930	2,90E+07	
		2	0,1	37	370				2	0,1	287		2870
		3	0,1	20	200				3	0,1			
36	7	1	0,1	2	20	3,00E+08	6	1	0,1	1	10	3,00E+07	
		2	0,1	4	40				2	0,1	3		30
		3	0,1	3	30				3	0,1	5		50
48	7	1	0,1	6	60	8,33E+08	7	1	0,1	12	120	7,00E+08	
		2	0,1	12	120				2	0,1	3		30
		3	0,1	7	70				3	0,1	6		60

ANNEXES

EXPÉRIENCE 0,2 % Tween 80 boues hydrolysées (35 g/l)

semaine du 30 septembre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	25	250	1,77E+06							
		2	0,1	14	140								
		3	0,1	14	140								
3	4	1	0,1	25	250	2,30E+06							
		2	0,1	18	180								
		3	0,1	26	260								
6	5	1	0,1	14	140	6,00E+06							
		2	0,1	2	20								
		3	0,1	2	20								
9	5	1	0,1	70	700	6,73E+07							
		2	0,1	67	670								
		3	0,1	65	650								
12	5	1	0,1	169	1690	1,45E+08	3	1	0,1	103	1030	1,05E+06	
		2	0,1	152	1520				2	0,1	115		1150
		3	0,1	113	1130				3	0,1	97		970
24	6	1	0,1	24	240	2,97E+08	4	1	0,1	285	2850	2,76E+07	
		2	0,1	44	440				2	0,1	273		2730
		3	0,1	21	210				3	0,1	271		2710
36	7	1	0,1	4	40	3,00E+08	6	1	0,1	5	50	3,67E+07	
		2	0,1	2	20				2	0,1	4		40
		3	0,1	3	30				3	0,1	2		20
48	7	1	0,1	6	60	7,00E+08	7	1	0,1	5	50	5,33E+08	
		2	0,1	6	60				2	0,1	5		50
		3	0,1	9	90				3	0,1	6		60

EXPÉRIENCE 0,3 % Tween 80 boues hydrolysées (35 g/l)

semaine du 6 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores						
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	26	260	4,87E+06							
		2	0,1	64	640								
		3	0,1	56	560								
3	4	1	0,1	50	500	4,03E+06							
		2	0,1	36	360								
		3	0,1	35	350								
6	5	1	0,1	51	510	4,73E+07							
		2	0,1	46	460								
		3	0,1	45	450								
9	5	1	0,1	91	910	6,37E+07							
		2	0,1	11	110								
		3	0,1	89	890								
12	5	1	0,1	128	1280	1,20E+08	3	1	0,1	261	2610	2,49E+06	
		2	0,1	104	1040				2	0,1	242		2420
		3	0,1	128	1280				3	0,1	243		2430
24	6	1	0,1	19	190	1,97E+08	4	1	0,1	264	2640	2,50E+07	
		2	0,1	17	170				2	0,1	247		2470
		3	0,1	23	230				3	0,1	238		2380
36	7	1	0,1	6	60	5,33E+08	7	1	0,1	4	40	4,00E+08	
		2	0,1	3	30				2	0,1	5		50
		3	0,1	7	70				3	0,1	3		30
48	7	1	0,1	7	70	7,67E+08	7	1	0,1	6	60	4,33E+08	
		2	0,1	6	60				2	0,1	4		40
		3	0,1	10	100				3	0,1	3		30

ANNEXES

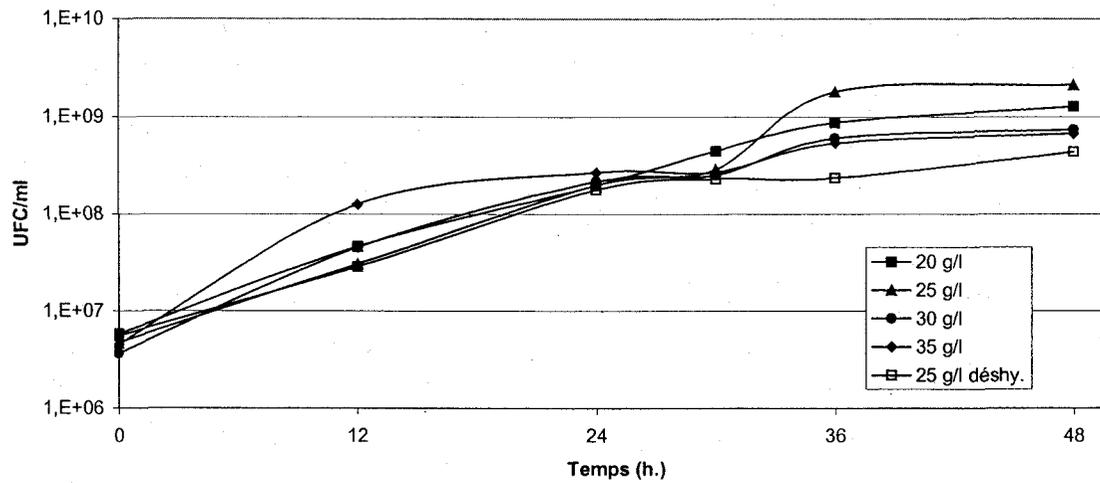
EXPÉRIENCE 0,4 % Tween 80 boues hydrolysées (35 g/l)
 semaine du 6 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total					Compte spores							
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	
0	4	1	0,1	47	470	3,30E+06							
		2	0,1	15	150								
		3	0,1	37	370								
3	4	1	0,1	25	250	3,20E+06							
		2	0,1	26	260								
		3	0,1	45	450								
6	5	1	0,1	46	460	5,10E+07							
		2	0,1	53	530								
		3	0,1	54	540								
9	5	1	0,1	99	990	1,01E+08							
		2	0,1	105	1050								
		3	0,1	98	980								
12	5	1	0,1	118	1180	1,14E+08	3	1	0,1	247	2470	2,43E+06	
		2	0,1	114	1140				2	0,1	252		2520
		3	0,1	110	1100				3	0,1	231		2310
24	6	1	0,1	16	160	1,73E+08	4	1	0,1	132	1320	1,42E+07	
		2	0,1	17	170				2	0,1	158		1580
		3	0,1	19	190				3	0,1	135		1350
36	7	1	0,1	6	60	4,33E+08	7	1	0,1	2	20	2,00E+08	
		2	0,1	3	30				2	0,1	3		30
		3	0,1	4	40				3	0,1	1		10
48	7	1	0,1	8	80	6,00E+08	7	1	0,1	7	70	4,67E+08	
		2	0,1	6	60				2	0,1	5		50
		3	0,1	4	40				3	0,1	2		20

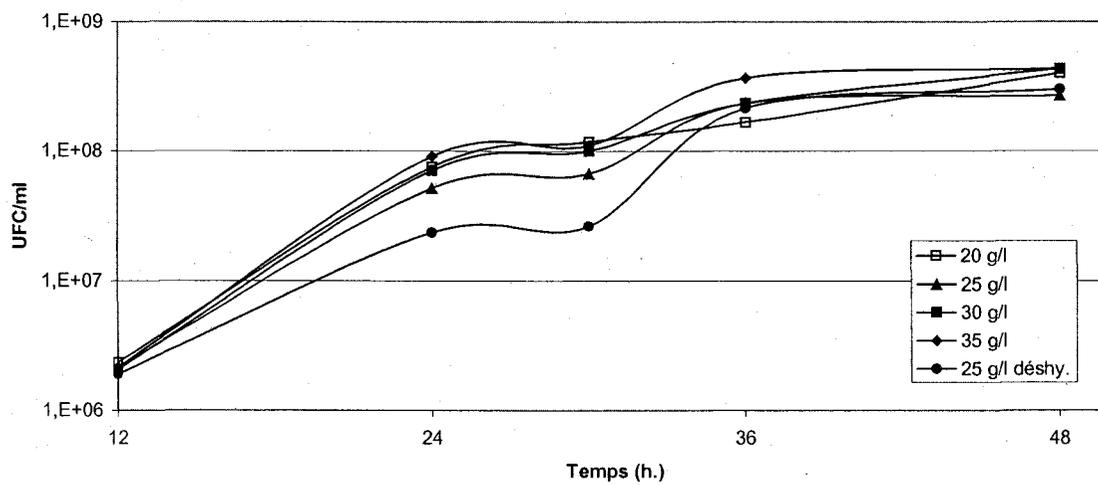
ANNEXE I

Résultats pour les boues de Jonquière non-hydrolysées

Nombre de cellules totales dans des boues non-hydrolysées (25 g/l) de Jonquière en fonction de différentes concentrations en solides



Nombre de spores dans des boues non-hydrolysées (25 g/l) de Jonquière en fonction des différentes concentrations en solides



ANNEXES

EXPÉRIENCE 20 g/l boues de Jonquière (non-hydrolysée)

semaine du 16 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	49	490	5,83E+06						
		2	0,1	79	790							
		3	0,1	47	470							
12	5	1	0,1	43	430	4,63E+07	3	1	0,1	233	2330	2,36E+06
		2	0,1	53	530				0,1	244	2440	
		3	0,1	43	430				0,1	230	2300	
24	6	1	0,1	16	160	1,97E+08	5	1	0,1	105	1050	7,50E+07
		2	0,1	27	270				0,1	55	550	
		3	0,1	16	160				0,1	65	650	
30	6	1	0,1	71	710	4,43E+08	5	1	0,1	141	1410	1,18E+08
		2	0,1	36	360				0,1	116	1160	
		3	0,1	26	260				0,1	96	960	
36	7	1	0,1	9	90	8,67E+08	7	1	0,1	2	20	1,67E+08
		2	0,1	8	80				0,1	2	20	
		3	0,1	9	90				0,1	1	10	
48	7	1	0,1	15	150	1,27E+09	7	1	0,1	3	30	4,00E+08
		2	0,1	11	110				0,1	6	60	
		3	0,1	12	120				0,1	3	30	

EXPÉRIENCE 25 g/l boues de Jonquière (non-hydrolysée)

semaine du 16 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	54	540	4,70E+06						
		2	0,1	49	490							
		3	0,1	38	380							
12	5	1	0,1	30	300	3,07E+07	3	1	0,1	190	1900	2,16E+06
		2	0,1	27	270				0,1	230	2300	
		3	0,1	35	350				0,1	228	2280	
24	6	1	0,1	18	180	1,97E+08	5	1	0,1	48	480	5,13E+07
		2	0,1	25	250				0,1	56	560	
		3	0,1	16	160				0,1	50	500	
30	6	1	0,1	28	280	2,13E+08	5	1	0,1	84	840	6,67E+07
		2	0,1	20	200				0,1	58	580	
		3	0,1	16	160				0,1	58	580	
36	7	1	0,1	18	180	1,80E+09	7	1	0,1	3	30	2,33E+08
		2	0,1	17	170				0,1	2	20	
		3	0,1	19	190				0,1	2	20	
48	7	1	0,1	24	240	2,13E+09	7	1	0,1	2	20	2,67E+08
		2	0,1	24	240				0,1	3	30	
		3	0,1	16	160				0,1	3	30	

ANNEXES

EXPÉRIENCE 30 g/l boues de Jonquière (non-hydrolysée)

semaine du 16 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	34	340	3,67E+06						
		2	0,1	37	370							
		3	0,1	39	390							
12	5	1	0,1	51	510	4,53E+07	3	1	0,1	215	2150	2,07E+06
		2	0,1	47	470				0,1	180	1800	
		3	0,1	38	380				0,1	227	2270	
24	6	1	0,1	19	190	2,13E+08	5	2	0,1	54	540	7,03E+07
		2	0,1	25	250				0,1	102	1020	
		3	0,1	20	200				0,1	55	550	
30	6	1	0,1	26	260	2,50E+08	5	1	0,1	86	860	1,00E+08
		2	0,1	24	240				0,1	131	1310	
		3	0,1	25	250				0,1	83	830	
36	7	1	0,1	4	40	6,00E+08	7	1	0,1	1	10	2,33E+08
		2	0,1	3	30				0,1	5	50	
		3	0,1	11	110				0,1	1	10	
48	7	1	0,1	8	80	7,33E+08	7	2	0,1	7	70	4,33E+08
		2	0,1	5	50				0,1	5	50	
		3	0,1	9	90				0,1	1	10	

EXPÉRIENCE 35 g/l boues de Jonquière (non-hydrolysée)

semaine du 16 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	30	300	4,53E+06						
		2	0,1	66	660							
		3	0,1	40	400							
12	5	1	0,1	125	1250	1,25E+08	3	1	0,1	202	2020	2,13E+06
		2	0,1	115	1150				0,1	220	2200	
		3	0,1	136	1360				0,1	218	2180	
24	6	1	0,1	18	180	2,67E+08	5	1	0,1	138	1380	9,07E+07
		2	0,1	34	340				0,1	67	670	
		3	0,1	28	280				0,1	67	670	
30	6	1	0,1	30	300	2,70E+08	5	2	0,1	86	860	1,10E+08
		2	0,1	25	250				0,1	169	1690	
		3	0,1	26	260				0,1	75	750	
36	7	1	0,1	9	90	5,33E+08	7	1	0,1	2	20	3,67E+08
		2	0,1	5	50				0,1	2	20	
		3	0,1	2	20				0,1	7	70	
48	7	1	0,1	9	90	6,67E+08	7	2	0,1	4	40	4,33E+08
		2	0,1	7	70				0,1	4	40	
		3	0,1	4	40				0,1	5	50	

EXPÉRIENCE 25 g/l boues déshydratées de Jonquière (non-hydrolysée)

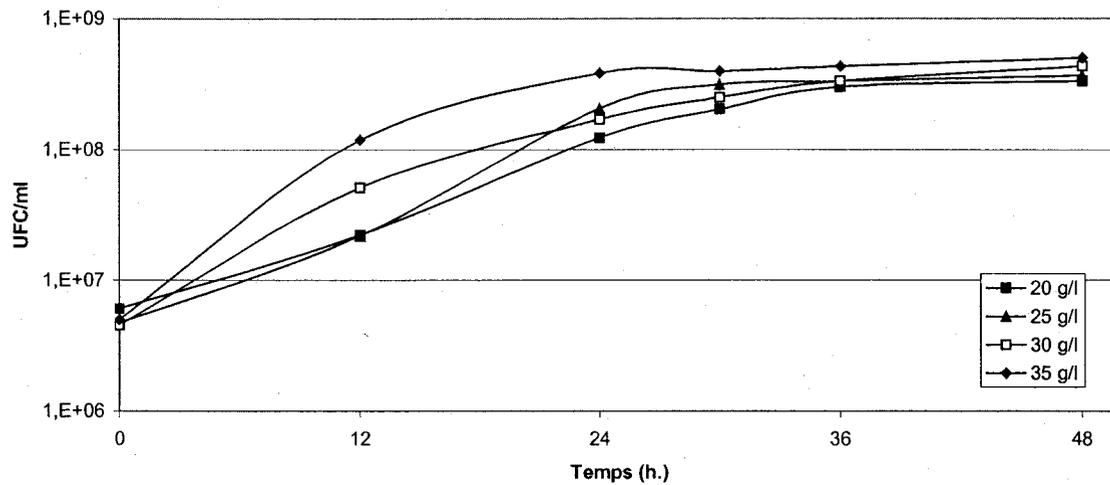
semaine du 16 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	37	370	5,53E+06						
		2	0,1	85	850							
		3	0,1	44	440							
12	5	1	0,1	31	310	2,87E+07	3	1	0,1	183	1830	1,91E+06
		2	0,1	28	280				0,1	191	1910	
		3	0,1	27	270				0,1	199	1990	
24	6	1	0,1	15	150	1,77E+08	4	1	0,1	244	2440	2,35E+07
		2	0,1	19	190				0,1	228	2280	
		3	0,1	19	190				0,1	232	2320	
30	6	1	0,1	19	190	2,30E+08	5	1	0,1	23	230	2,17E+07
		2	0,1	21	210				0,1	21	210	
		3	0,1	29	290				0,1	21	210	
36	7	1	0,1	1	10	2,33E+08	6	1	0,1	24	240	2,13E+08
		2	0,1	5	50				0,1	15	150	
		3	0,1	1	10				0,1	25	250	
48	7	1	0,1	4	40	4,33E+08	7	1	0,1	2	20	3,00E+08
		2	0,1	5	50				0,1	3	30	
		3	0,1	4	40				0,1	4	40	

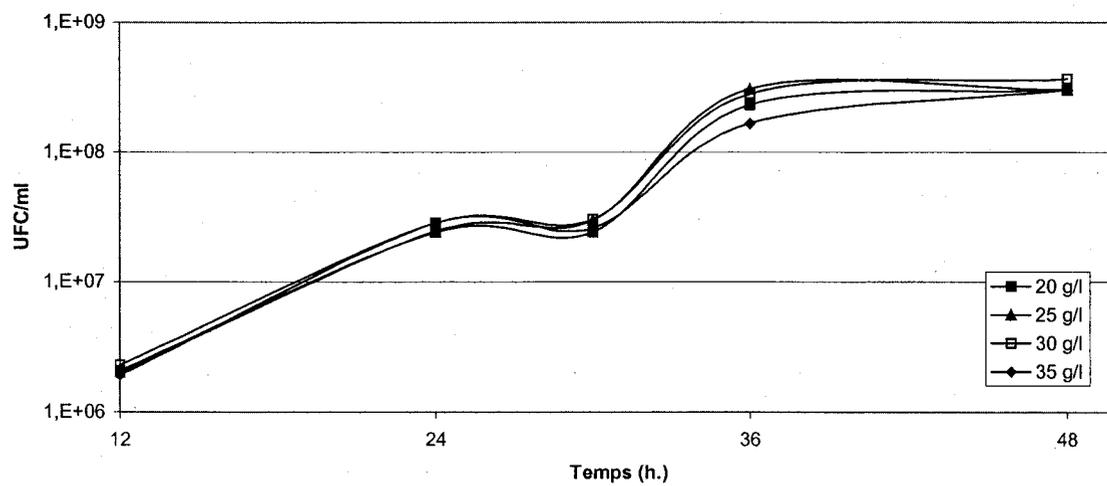
ANNEXE J

Résultats pour les boues déshydratées de Jonquière hydrolysées

Nombre de cellules totales dans des boues de Jonquière déshydratées et hydrolysées (35 g/l) en fonction de différentes concentrations en solides



Nombre de spores dans des boues de Jonquière déshydratées et hydrolysées (35 g/l) en fonction de différentes concentrations en solides



ANNEXES

EXPÉRIENCE 20 g/l boues de Jonquière déshydratées (hydrolysée)

semaine du 28 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	65	650	6,10E+06						
		2	0,1	65	650							
		3	0,1	53	530							
12	5	1	0,1	23	230	2,23E+07	3	1	0,1	213	2130	2,07E+06
		2	0,1	23	230				0,1	211	2110	
		3	0,1	21	210				0,1	197	1970	
24	6	1	0,1	8	80	1,23E+08	4	1	0,1	237	2370	2,40E+07
		2	0,1	13	130				0,1	222	2220	
		3	0,1	16	160				0,1	261	2610	
30	6	1	0,1	27	270	2,03E+08	5	1	0,1	24	240	2,40E+07
		2	0,1	19	190				0,1	21	210	
		3	0,1	15	150				0,1	27	270	
36	7	1	0,1	2	20	3,00E+08	6	1	0,1	34	340	2,30E+08
		2	0,1	1	10				0,1	15	150	
		3	0,1	6	60				0,1	20	200	
48	7	1	0,1	3	30	3,33E+08	7	1	0,1	2	20	3,00E+08
		2	0,1	3	30				0,1	2	20	
		3	0,1	4	40				0,1	5	50	

EXPÉRIENCE 25 g/l boues de Jonquière déshydratées (hydrolysée)

semaine du 28 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	30	300	4,73E+06						
		2	0,1	43	430							
		3	0,1	69	690							
12	5	1	0,1	25	250	2,20E+07	3	1	0,1	190	1900	2,01E+06
		2	0,1	19	190				0,1	202	2020	
		3	0,1	22	220				0,1	211	2110	
24	6	1	0,1	22	220	2,07E+08	4	1	0,1	223	2230	2,46E+07
		2	0,1	19	190				0,1	254	2540	
		3	0,1	21	210				0,1	260	2600	
30	6	1	0,1	33	330	3,13E+08	5	1	0,1	28	280	2,97E+07
		2	0,1	27	270				0,1	26	260	
		3	0,1	34	340				0,1	35	350	
36	7	1	0,1	2	20	3,33E+08	6	1	0,1	34	340	3,07E+08
		2	0,1	5	50				0,1	27	270	
		3	0,1	3	30				0,1	31	310	
48	7	1	0,1	4	40	3,67E+08	7	1	0,1	2	20	3,00E+08
		2	0,1	4	40				0,1	4	40	
		3	0,1	3	30				0,1	3	30	

EXPÉRIENCE 30 g/l boues de Jonquière déshydratées (hydrolysée)
 semaine du 28 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	45	450	4,53E+06						
		2	0,1	45	450							
		3	0,1	46	460							
12	5	1	0,1	51	510	5,10E+07	3	1	0,1	251	2510	2,28E+06
		2	0,1	53	530				0,1	244	2440	
		3	0,1	49	490				0,1	190	1900	
24	6	1	0,1	15	150	1,70E+08	4	1	0,1	291	2910	2,82E+07
		2	0,1	18	180				0,1	279	2790	
		3	0,1	18	180				0,1	277	2770	
30	6	1	0,1	27	270	2,50E+08	5	1	0,1	29	290	3,03E+07
		2	0,1	21	210				0,1	34	340	
		3	0,1	27	270				0,1	28	280	
36	7	1	0,1	5	50	3,33E+08	6	1	0,1	25	250	2,80E+08
		2	0,1	4	40				0,1	28	280	
		3	0,1	1	10				0,1	31	310	
48	7	1	0,1	3	30	4,33E+08	7	1	0,1	3	30	3,67E+08
		2	0,1	6	60				0,1	2	20	
		3	0,1	4	40				0,1	6	60	

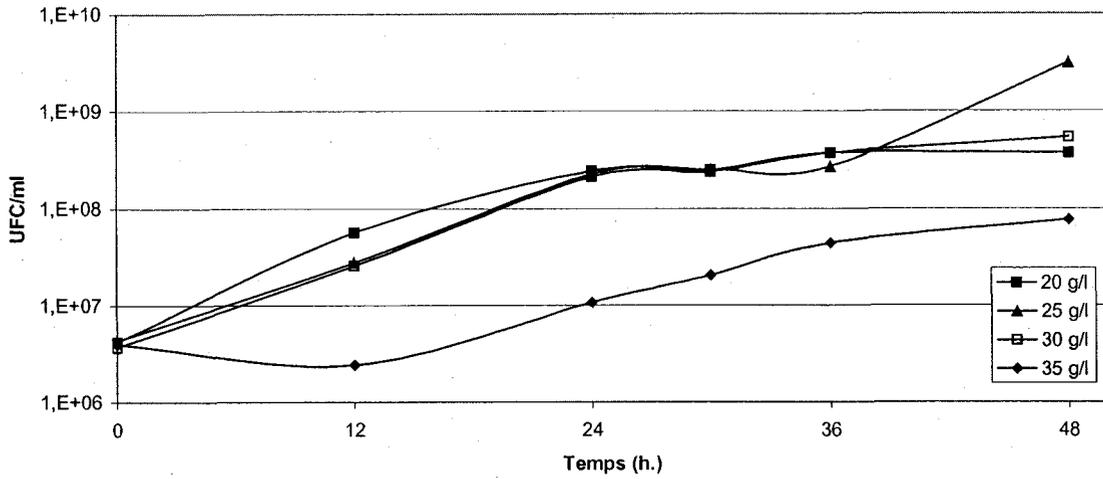
EXPÉRIENCE 35 g/l boues de Jonquière déshydratées (hydrolysée)
 semaine du 28 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	69	690	5,00E+06						
		2	0,1	23	230							
		3	0,1	58	580							
12	5	1	0,1	137	1370	1,18E+08	3	1	0,1	183	1830	1,91E+06
		2	0,1	95	950				0,1	190	1900	
		3	0,1	123	1230				0,1	201	2010	
24	6	1	0,1	54	540	3,83E+08	4	1	0,1	281	2810	2,83E+07
		2	0,1	34	340				0,1	296	2960	
		3	0,1	27	270				0,1	272	2720	
30	6	1	0,1	40	400	3,97E+08	5	1	0,1	35	350	2,60E+07
		2	0,1	40	400				0,1	17	170	
		3	0,1	39	390				0,1	26	260	
36	7	1	0,1	4	40	4,33E+08	6	1	0,1	19	190	1,67E+08
		2	0,1	5	50				0,1	13	130	
		3	0,1	4	40				0,1	18	180	
48	7	1	0,1	3	30	5,00E+08	7	1	0,1	2	20	3,00E+08
		2	0,1	7	70				0,1	3	30	
		3	0,1	5	50				0,1	4	40	

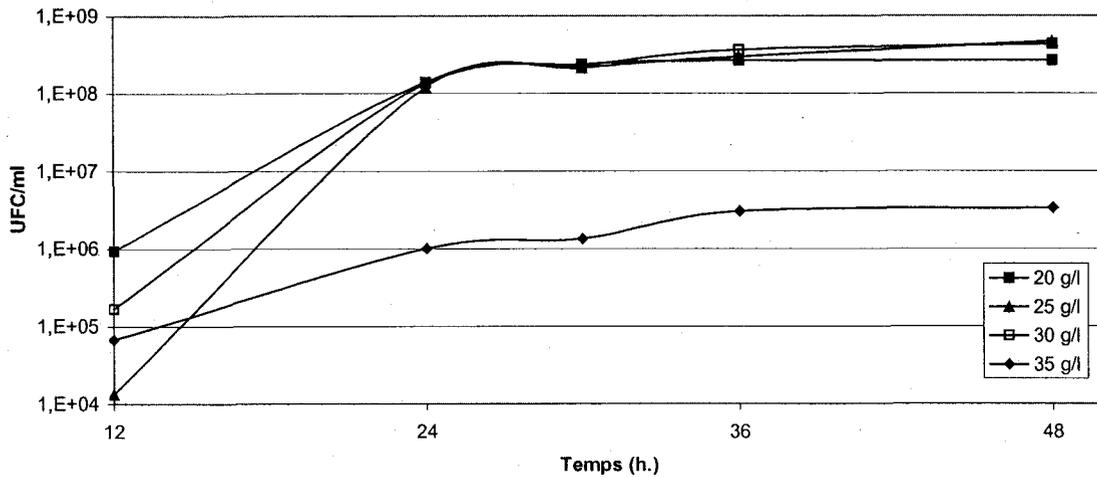
ANNEXE K

Résultats pour les boues déshydratées mélangées avec des boues
secondaires de Jonquière hydrolysées

Nombre de cellules totales dans un mélange hydrolysé de boues de Jonquière et de boues déshydratées (35 g/l) en fonction de différentes concentrations en solides



Nombre de spores dans un mélange hydrolysé de boues de Jonquière et de boues déshydratées (35 g/l) en fonction de différentes concentrations en solides



ANNEXES

EXPÉRIENCE 20 g/l boues de Jonquière + déshydratées (hydrolysée)

semaine du 21 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	38	380	4,20E+06						
		2	0,1	44	440							
		3	0,1	44	440							
12	5	1	0,1	83	830	5,60E+07	4	1	0,1	12	120	9,33E+05
		2	0,1	49	490				0,1	9	90	
		3	0,1	36	360				0,1	7	70	
24	6	1	0,1	28	280	2,43E+08	5	1	0,1	148	1480	1,39E+08
		2	0,1	19	190				0,1	140	1400	
		3	0,1	26	260				0,1	130	1300	
30	6	1	0,1	26	260	2,47E+08	6	1	0,1	31	310	2,40E+08
		2	0,1	19	190				0,1	24	240	
		3	0,1	29	290				0,1	17	170	
36	7	1	0,1	5	50	3,67E+08	7	1	0,1	4	40	2,67E+08
		2	0,1	3	30				0,1	2	20	
		3	0,1	3	30				0,1	2	20	
48	7	1	0,1	3	30	3,67E+08	7	1	0,1	3	30	2,67E+08
		2	0,1	2	20				0,1	2	20	
		3	0,1	6	60				0,1	3	30	

EXPÉRIENCE 25 g/l boues de Jonquière + déshydratées (hydrolysée)

semaine du 21 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	33	330	4,27E+06						
		2	0,1	35	350							
		3	0,1	60	600							
12	5	1	0,1	16	160	2,73E+07	3	1	0,1	2	20	1,33E+04
		2	0,1	29	290				0,1	1	10	
		3	0,1	37	370				0,1	1	10	
24	6	1	0,1	17	170	2,23E+08	5	1	0,1	120	1200	1,20E+08
		2	0,1	27	270				0,1	127	1270	
		3	0,1	23	230				0,1	112	1120	
30	6	1	0,1	23	230	2,50E+08	6	1	0,1	19	190	2,13E+08
		2	0,1	16	160				0,1	21	210	
		3	0,1	36	360				0,1	24	240	
36	7	1	0,1	3	30	2,67E+08	7	1	0,1	2	20	3,00E+08
		2	0,1	4	40				0,1	4	40	
		3	0,1	1	10				0,1	3	30	
48	7	1	0,1	5	50	3,10E+09	7	1	0,1	6	60	4,67E+08
		2	0,1	6	60				0,1	4	40	
		3	0,1	82	820				0,1	4	40	

EXPÉRIENCE 30 g/l boues de Jonquière + déshydratées (hydrolysée)

semaine du 21 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	30	300	3,67E+06						
		2	0,1	45	450							
		3	0,1	35	350							
12	5	1	0,1	38	380	2,53E+07	4			1	10	1,67E+05
		2	0,1	19	190							
		3	0,1	19	190							
24	6	1	0,1	20	200	2,10E+08	5		1	124	1240	1,35E+08
		2	0,1	20	200							
		3	0,1	23	230							
30	6	1	0,1	18	180	2,37E+08	6		1	24	240	2,30E+08
		2	0,1	28	280							
		3	0,1	25	250							
36	7	1	0,1	5	50	3,67E+08	7		1	6	60	3,67E+08
		2	0,1	4	40							
		3	0,1	2	20							
48	7	1	0,1	7	70	5,33E+08	7		1	6	60	4,33E+08
		2	0,1	6	60							
		3	0,1	3	30							

EXPÉRIENCE 35 g/l boues de Jonquière + déshydratées (hydrolysée)

semaine du 21 octobre 2002

Échantillon (T = hres)	Compte total						Compte spores					
	dilution	triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne	dilution x10	Triplica no.	Volume étalé (mL)	UFC	UFC/mL	Moyenne
0	4	1	0,1	43	430	3,97E+06						
		2	0,1	35	350							
		3	0,1	41	410							
12	5	1	0,1	1	10	1,33E+06	4		1	1	10	6,67E+04
		2	0,1	2	20							
		3	0,1	1	10							
24	5	1	0,1	21	210	1,07E+07	5		1	1	10	1,00E+06
		2	0,1	7	70							
		3	0,1	4	40							
30	5	1	0,1	21	210	2,03E+07	5		1	2	20	1,33E+06
		2	0,1	21	210							
		3	0,1	19	190							
36	6	1	0,1	9	90	4,33E+07	5		1	2	20	3,00E+06
		2	0,1	2	20							
		3	0,1	2	20							
48	6	1	0,1	5	50	7,67E+07	5		1	4	40	3,33E+06
		2	0,1	12	120							
		3	0,1	6	60							