

**REVALORISATION DE LA BIOMASSE CHITINEUSE  
PAR VOIE DE COMPOSTAGE**

par

**Sébastien Roy**

Mémoire présenté au Département de biologie  
en vue de l'obtention du grade de maître ès sciences (M. Sc.)

**FACULTÉ DES SCIENCES  
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE**

Sherbrooke, Québec, Canada, Novembre 1996



National Library  
of Canada

Acquisitions and  
Bibliographic Services

395 Wellington Street  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

Bibliothèque nationale  
du Canada

Acquisitions et  
services bibliographiques

395, rue Wellington  
Ottawa ON K1A 0N4  
Canada

*Your file Votre référence*

*Our file Notre référence*

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-21828-7

## SOMMAIRE

Les résidus de crevettes sont générés dans l'industrie de la transformation alimentaire des fruits de mer. Il sont produits lors du décorticage des crevettes. En Gaspésie, ces résidus sont souvent enfouis. À l'heure actuelle, la revalorisation de ces résidus par voie de compostage se fait d'une façon marginale.

La chitine est le polymère naturel formant les carapaces de crustacés. Elle possède plusieurs propriétés intéressantes dont la capacité d'inhiber la croissance de certains champignons et la capacité d'induire certaines réactions défensives chez la plante lorsque présente sous forme oligomérique. Ces deux propriétés, si elles sont bien exploitées, peuvent devenir intéressantes pour la culture horticole ou maraîchère.

Essentiellement, nos travaux ont consisté à développer un procédé de compostage de résidus de crevettes respectant les normes d'hygiène, optimisant l'utilisation de la biomasse chitineuse et ayant comme produit final un compost fertilisant, non-phytotoxique et possédant suffisamment de chitine sous forme oligomérique pour avoir le potentiel d'être phytoprotecteur. Les objectifs ont donc été de définir la méthode de compostage, les intrants (biomasses) à composter avec les résidus de crevettes et finalement, de développer une méthode de suivi du processus de compostage.

Les essais de compostage se sont faits à petite échelle (4 litres) avec aération forcée et température imposée pour simuler la hausse de température observée dans de gros volumes de compost. Nous avons défini le procédé de compostage lui-même en ce qui concerne la température de compostage, sa durée, le débit et la fréquence d'aération.

Les intrants essayés ont été variés: résidus de crevettes, boues d'épuration, tourbe, feuilles, composts commerciaux et sciures de résineux et de feuillus, etc. Les mélanges ont été formulés en fonction d'objectifs tels, que: produire un compost de qualité aux propriétés fertilisantes, minimiser le dégagement d'odeurs, minimiser la production de lixiviats, favoriser la rétention de l'azote et optimiser l'utilisation de la biomasse chitineuse. Certaines formulations obtenues possèdent suffisamment d'oligomères de chitine pour avoir le potentiel d'être fongistatiques ou phytoprotectrices.

Nous avons défini les paramètres chimiques, physiques et biologiques importants au suivi de l'évolution du compost que nous voulons obtenir. Certains de ces paramètres (capacité d'échange cationique, pH, teneur en eau, germination du cresson et rapport C/N) ont pu être mesurés grâce à des techniques bien établies. Pour d'autres paramètres, nous avons adapté quelque peu les techniques à nos besoins, notamment pour la mesure de la conductivité et le dosage de l'ammonium. Finalement, pour l'étude d'autres paramètres, nous avons développé de nouvelles techniques. C'était notamment le cas pour les dosages de l'activité cellulolytique et des oligomères de chitine (NHF = N-acetylglucosaminidase - Hydrolysable Fraction).

Finalement, certains résultats prometteurs indiquent la possibilité d'une approche simplifiée pour la détermination de la maturité du compost que nous voulons obtenir. Elle réside en une séquence d'événements survenant entre les paramètres de conductivité, NHF et teneur en ammonium lors du compostage. Cette approche simplifiée serait utile pour les essais à plus grande échelle ou encore à l'échelle industrielle.

## REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier en premier lieu mon directeur de recherche, le docteur Ryszard Brzezinski pour sa disponibilité et son support tout au long de ma maîtrise de même que le CORPAQ pour le soutien financier du projet.

Je remercie également mon codirecteur de recherche, le docteur Gervais Soucy (Département de Génie Chimique, Université de Sherbrooke) pour ses conseils et son soutien. J'adresse aussi mes remerciements les plus sincères à mes conseillers, les docteurs Carole Beaulieu et Claude Déry pour leur suivi et leurs critiques.

Merci à mes collègues de travail M. Philippe Leclerc, Mme. Cinthia Labrie, Mme. Fanny Thiffault pour leur participation au projet global.

Je dois aussi souligner l'atmosphère de travail singulier et dynamique créé par mes collègues de laboratoire au Groupe de Recherche en Biologie des Actinomycètes qui ont su, comme les autres membres du Département de Biologie, accepter gracieusement les assauts olfactifs découlant occasionnellement de mes travaux.

J'adresse un remerciement particulier aux docteurs Pierre Bécharde (Faculté des Sciences, Université de Sherbrooke), Jean-Marie Bergeron et Gilles Grenier (Département de Biologie, Université de Sherbrooke) pour leur support au tout début du projet.

Finalement, j'aimerais remercier les membres de ma famille et particulièrement ma mère pour m'avoir appris la persévérance par son exemple.

# TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE .....	ii
REMERCIEMENTS .....	iv
TABLE DES MATIÈRES .....	v
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	viii
LISTE DES TABLEAUX .....	x
LISTE DES FIGURES .....	xi
CHAPITRE 1	
INTRODUCTION .....	1
1.1 Généralités .....	1
1.2 Modes d'action des oligomères de chitine .....	3
1.2.1 Éliciteurs de réactions défensives chez les plantes .....	3
1.2.2 Enrichissement des populations microbiennes antagonistes aux agents pathogènes .....	4
1.3 Procédé de compostage - généralités .....	5
1.4 Objectifs et méthodologie du travail .....	6

## CHAPITRE 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES .....	9
2.1 Appareillage utilisé pour le compostage .....	9
2.2 Biomasses utilisées .....	10
2.3 Analyses pour caractériser l'état du compost .....	13
2.3.1 Dosage du carbone organique total et de l'azote total .....	13
2.3.2 Dosage de l'ammonium .....	13
2.3.3 Dosage de la fraction hydrolysable par la N-acétyl- $\beta$ -glucosaminidase (NHF) .....	14
2.3.4 Dosage de l'activité cellulolytique .....	16
2.3.5 Évaluation de la phytotoxicité par le test de germination du cresson	18
2.3.6 Évaluation de la capacité d'échange cationique (CEC) .....	20
2.3.7 Mesure de la conductivité électrique .....	22
2.4 Dosage des sucres réducteurs .....	22
2.5 Production de la $\beta$ - N-acétylglucosaminidase .....	23
2.5.1 Dosage de l'activité $\beta$ - N-acétylglucosaminidase dans les cultures microbiennes .....	24

## CHAPITRE 3

RÉSULTATS .....	26
3.1 Procédé de compostage .....	26
3.2 Formulation des composts .....	27
3.3 Évolution du compostage - composts UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> , CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> et C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> amendés à 33% .....	29
3.4 Évolution du compostage - composts commerciaux amendés à 15% et 33%	29

3.5 Optimisation de l'utilisation de la biomasse chitineuse .....	40
3.5.1 Influence de la présence ou de l'absence de résidus de crevettes dans la formulation initiale sur la valeur des pics de NHF .....	41
3.5.2 Utilisation de composts commerciaux comme intrants .....	43
3.5.3 Amendements en cours de compostage .....	46
3.6 Méthode simplifiée pour le suivi du procédé de compostage .....	48
3.7 Tendence générale de l'activité cellulolytique en cours de compostage ....	51
3.7.1 Conversion des unités de DO d'activité cellulolytique en unités internationales d'activité enzymatique .....	54
3.8 Composts et produits commerciaux .....	58
CHAPITRE 4	
DISCUSSION .....	59
4.1 Procédé de compostage choisi .....	59
4.2 Formulations .....	59
4.3 Utilisation optimale de la biomasse chitineuse .....	63
4.4 Méthode simplifiée de suivi proposée .....	64
4.5 Évaluation des composts produits .....	65
4.6 Classification générale des composts produits .....	66
4.7 La revalorisation de la biomasse chitineuse .....	67
CONCLUSION .....	69
ANNEXE .....	71
BIBLIOGRAPHIE .....	72



## LISTE DES ABRÉVIATIONS

### Unités de mesure:

°C:	degrés celsius
µl:	microlitres
ml:	millilitres
l:	litres
µg:	microgrammes
mg:	milligrammes
g:	grammes
h:	heures
nm:	nanomètres
mm:	millimètres
cm:	centimètres
min:	minutes
mM:	millimoles
mol:	moles
N:	normale
rpm:	révolutions par minute
ms:	millisiemens
sec:	secondes
mU:	milliunités internationales
U:	unités internationales
mv:	millivolts

Produits chimiques et autres:

Ba(OAc) <sub>2</sub> :	acétate de baryum
CMC:	carboxyméthylcellulose
H <sub>2</sub> O:	eau
HCl:	acide chlorhydrique
NaCl:	chlorure de sodium
NAG	(β-N-acétyl-D-glucosamine)
NAGase	(β-N-acétylglucosaminidase, EC 3.2.1.30)
pNP	(p- nitrophenyl N-acetyl-D glucopyranoside, aussi appelé 4-nitrophenyl 2-acetamido 2-deoxy-D glucopyranoside)
OBR:	ostazin brilliant-red hydroxymethylcellulose
Solution EA:	éthanol-acétone en proportion 2:1
Solution GT:	glycérol-tampon acétate (50mM, pH 5,5) en proportion 1:1
TSA:	tryptic soy agar
Tween 80:	détergent biologique
C/N:	rapport carbone sur azote
CEC:	capacité d'échange cationique
DO:	densité optique
MS:	masse sèche
NHF:	fraction hydrolysable par la NAGase
pH:	potentiel hydrique
σ:	sigma, la variation intrinsèque à une technique d'analyse donnée
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	compost formé de résidus de crevettes, tourbe brune et sciures de résineux en proportion volumétrique 1:2:2
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	compost formé de tourbe brune et de sciures de résineux en proportion volumétrique 1:1 et une quantité d'azote (sous forme d'urée) équivalente à celle provenant des résidus de crevettes dans un mélange CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	compost formé de résidus de crevettes, tourbe brune et sciures de résineux en proportion volumétrique 2:9:9

## LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1	Intrants utilisés lors des essais à petite échelle. ....	11
TABLEAU 2	Produits commerciaux analysés directement, sans compostage supplémentaire .....	12
TABLEAU 3.1	Formulations des composts à base d'intrants bruts. ....	27
TABLEAU 3.2	Formulations des composts à base de résidus de crevettes et de composts commerciaux. ....	28
TABLEAU 4	Pics de NHF - composts $UT_2S_2$ et $CT_2S_2$ amendés de résidus de crevettes à 33% poids sec - poids sec .....	42
TABLEAU 5.1	Pics de NHF - composts $UT_2S_2$ , $CT_2S_2$ , $C_2T_9S_9$ , "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" amendés de résidus de crevettes à 33% poids sec - poids sec. ....	44
TABLEAU 5.2	Analyses de Student bilatérales portant sur les pics de NHF des composts $UT_2S_2$ , $CT_2S_2$ , $C_2T_9S_9$ , "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" amendés à 33%. ....	45
TABLEAU 6	Pics de NHF - composts "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" amendés de résidus de crevettes à 15% ou 33% poids sec - poids sec. ....	47
TABLEAU 7	Arrêt du compostage selon une méthode simplifiée - composts $UT_2S_2$ , $CT_2S_2$ et $C_2T_9S_9$ amendés de résidus de crevettes à 33% poids sec - poids sec. ....	50
TABLEAU 8	Analyse de composts et produits commerciaux. ....	58
TABLEAU 9	Critères de sélection des intrants .....	60
TABLEAU 10	Description des intrants choisis .....	61

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Patron de température imposée .....	9
Figure 2.1: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> (réplicata A). .....	31
Figure 2.2: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> (réplicata D). .....	32
Figure 2.3: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> (réplicata A) .....	33
Figure 3.1: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Aquaterre" amendés à 15% (réplicata A). .....	34
Figure 3.2: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Aquaterre" amendés à 33% (réplicata C). .....	35
Figure 3.3: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Écotech" amendés à 15% (réplicata B). .....	36
Figure 3.4: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Écotech" amendés à 33% (réplicata C). .....	37
Figure 3.5: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Botanix" amendés à 15% (réplicata A). .....	38
Figure 3.6: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Botanix" amendés à 33 % (réplicata C). .....	39
Figure 4.1: Tendance générale de l'activité cellulolytique en cours de compostage - composts UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> amendés à 33% (réplicata D). .....	52
Figure 4.2: Tendance générale de l'activité cellulolytique en cours de compostage - composts "Aquaterre" amendés à 15% (réplicata A). .....	53

Figure 5.1: DO à 550nm en fonction de la quantité d'enzyme pour les tubes contenant le substrat OBR. ....	55
Figure 5.2: Courbe standard du dosage de sucres réducteurs par la méthode Nelson-Somogyi (DO à 520nm en fonction de la quantité de glucose libérée). ....	56
Figure 5.3: Relation linéaire entre les unités internationales de cellulase et la densité optique mesurée avec le substrat OBR. ....	57
Figure 6: Courbe standard du dosage Morgan-Elson de la NAG. DO à 585nm en fonction de la concentration en µg/ml ....	71

# CHAPITRE 1

## INTRODUCTION

### 1.1 Généralités:

On peut définir le compostage de façon générale comme étant un procédé aérobie de dégradation et de stabilisation de la matière organique. Le projet global dont le présent travail fait partie vise à développer les techniques nécessaires à la production économique et à grande échelle d'un compost de qualité ayant certaines propriétés fongistatiques phytoprotectrices. Ces deux propriétés dépendent directement de la dégradation de la chitine composant les résidus de crevettes.

La chitine se retrouve également dans la cuticule de certains insectes ainsi que dans la paroi des champignons et des levures. Elle est le deuxième polymère le plus abondant sur la terre après la cellulose. Elle est formée de monomères de  $\beta$ -N-acétyl-D-glucosamine (NAG). On estime à  $10^6$  ou  $10^7$  tonnes métriques la quantité de chitine disponible, en tant que ressource brute, chez les organismes marins tels que les crustacés et le krill. La production annuelle de chitine chez le zooplancton est, à elle seule, de l'ordre de plusieurs milliards de tonnes (Peter, 1995). Comme stipulé par Yu *et al.* (1991) et de façon très imagée, il y a une pluie constante de chitine au fond de l'océan.

Au Québec, l'industrie de transformation de la crevette de la côte gaspésienne génère une quantité impressionnante de ces résidus chitineux: plus de 4000 tonnes par an. Pendant longtemps, ces résidus n'étaient pas recyclés; on en disposait simplement par l'enfouissement (Seng, 1987).

Depuis une vingtaine d'années, beaucoup de recherches ont été effectuées sur la chitine et ses dérivés et on a découvert que ce polymère, ainsi que son dérivé déacétylé, le chitosane, possèdent plusieurs propriétés physico-chimiques intéressantes pouvant amplement justifier l'effort de la revalorisation des résidus chitineux marins. Mon projet de maîtrise s'inscrit dans cette tendance.

Plusieurs propriétés de la chitine font qu'elle est la pierre angulaire de ce projet. L'une d'elles, est sa capacité d'inhiber la croissance de certains champignons lorsqu'elle est présente à haute concentration. Elle peut également induire certaines réactions défensives chez la plante. Ces deux propriétés, si elles sont bien exploitées, peuvent devenir intéressantes pour la culture de plantes; qu'elle soit maraîchère ou horticole.

Pour cette raison et pour revaloriser une biomasse très disponible et gaspillée, nous avons décidé de développer un compost à base de carapaces de crevettes. Le compost devra être un amendement fertilisant pour le sol et favoriser la croissance des plantes. Quelques composts à base de crevettes sont déjà sur le marché mais ils ne sont pas spécifiquement axés vers une utilisation phytoprotectrice ou fongistatique. Notons que la majorité des travaux effectués à ce jour concernant la suppression des maladies des plantes à l'aide de composts concerne les cultures ornementales puisque la haute valeur-ajoutée des produits de cette industrie justifie un tel investissement (Hoitink, 1986). La variation intrinsèque au processus de compostage est le facteur principal limitant l'utilisation des composts phytoprotecteurs puisque la constance de la maturité et la qualité de ces derniers en sont affectées (Hoitink *et al.*, 1991).

## **1.2 Modes d'action des oligomères de chitine:**

### **1.2.1 Éliciteurs de réactions défensives chez les plantes:**

Il a été démontré que les oligomères de chitosane, un dérivé de la chitine, peuvent induire des réactions défensives chez plusieurs plantes. Cette induction se produit puisque le chitosane est un polymère que l'on retrouve dans la paroi de plusieurs champignons pathogènes des plantes. Les plantes ayant déjà développé un mécanisme de reconnaissance de ces derniers réagissent de manière défensive en présence de chitosane. De cette manière, les oligomères de chitine (un polymère de  $\beta$ -N-acétyl-D-glucosamine) fortement apparentés aux oligomères de chitosane (un polymère de  $\beta$ -D-glucosamine) pourraient devenir un outil naturel de défense des plantes (Li *et al.*, 1995).

Les réactions défensives peuvent être induites à de faibles concentrations d'oligomères de chitosane de l'ordre de 10 à 50  $\mu$ g/ml (Li *et al.*, 1995). Il a également été démontré qu'elles peuvent être induites en appliquant une quantité de chitosane de haut poids moléculaire aussi faible que 37,5  $\mu$ g/ml directement au milieu de culture de plants de tomates (Lafontaine et Benhamou, 1996). Les réactions mentionnées consistent principalement en une hausse de la production de diverses protéines PR (pathogenesis-related proteins) d'un facteur 1,5 à 2,5. Ce sont typiquement des protéines telles que les chitinases, chitosanases et  $\beta$ -1,3-glucanases (Li *et al.*, 1995). Une étude détaillée de l'effet de notre compost sur les plantes est présentement en cours et elle constitue le projet de maîtrise de Mme. Cinthia Labrie (Département de biologie, Université de Sherbrooke).



### **1.2.2 Enrichissement des populations microbiennes antagonistes aux agents pathogènes:**

Les substrats utilisés dans les composts à but phytoprotecteur sont très variés. Souvent on y retrouve des résidus ligneux tels que les résidus d'émondage (riches en carbone, pauvres en azote) et des résidus riches en azote et pauvres en carbone tels que les boues résiduelles de l'épuration des eaux municipales, fumiers, boues de brasseries et les résidus de champignonnières. Ces composts vont parfois favoriser la croissance d'une microflore antagoniste aux champignons phytopathogènes du sol. Cette microflore peut être composée de champignons tels que *Trichoderma* sp. et *Gliocladium virens* et de bactéries telles que *Flavobacterium balustinum*, *Pseudomonas putida* et *Xanthomonas maltophila*.

On peut également inoculer les composts avec des champignons et bactéries antagonistes. Dans ce genre d'approche, il a été démontré que les champignons et bactéries ont une meilleure performance antagoniste lorsqu'on les utilise ensemble face aux agents pathogènes comme *Rhizoctonia* et *Pythium* sp. (Hoitink, 1986). En fait, plusieurs autres travaux montrent que l'inhibition de la croissance de *Pythium* sp en présence de différents composts est surtout due à la présence d'une microflore antagoniste et que les populations impliquées dans cet antagonisme semblent être une variété de champignons et les actinomycètes (bactéries gram+, filamenteuses) (Craft et Nelson, 1996).

C'est durant le processus de compostage que ces populations antagonistes vont proliférer. Suite à l'application du compost sur le sol, ces mêmes populations antagonistes vont coloniser le sol et joueront un rôle important dans la suppression des agents pathogènes du sol. Il faut cependant noter que ces observations ne peuvent être généralisées à tous les composts puisque l'antagonisme dépend de la nature des substrats compostés, du procédé de compostage utilisé et de la maturité du compost avant l'amendement au sol. Ce sont ces trois facteurs qui influencent le plus la nature de la microflore qui se développera dans le compost (Hoitink,

1986). L'étude de l'évolution de la microflore en cours de compostage est un volet qui constitue le projet de maîtrise de M. Phillippe Leclerc (Département de biologie, Université de Sherbrooke).

### **1.3 Procédé de compostage - généralités:**

Tel que défini précédemment, le compostage est un procédé aérobie. Il existe plusieurs techniques permettant l'aération du compost, le recueil des lixiviats et le contrôle d'autres facteurs affectant ou résultant du procédé. La technologie actuelle permet donc un spectre d'opérations simplifiées (tas de compost à l'extérieur, retournement mécanique périodique) jusqu'aux plus évoluées (système clos, bioréacteur et contrôle automatisé de tous les paramètres). La vaste majorité des procédés de compostage comportent toutefois trois phases principales:

1- Une première phase dite "mésophile" est celle où la température du compost varie entre environ 15°C et 40°C. Pendant cette phase, les substrats les plus facilement utilisables sont partiellement ou totalement utilisés par les microorganismes. La chaleur résultant de l'activité métabolique microbienne commence à s'accumuler dans le tas de compost. À ce moment, la microflore est composée essentiellement de champignons et de bactéries mésophiles.

2- Lors de la deuxième phase, dite "thermophile", la température continue d'augmenter et atteint un plateau entre 45°C et 65°C. Les substrats moins faciles à dégrader tels que la cellulose et la lignine sont attaqués par les microorganismes. La chaleur générée par cette activité tue la vaste majorité des organismes pathogènes des plantes, des animaux et de l'homme. La microflore se compose alors de champignons et de bactéries thermophiles ou thermorésistants. Les bactéries prédominantes à la phase thermophile sont les actinomycètes sous forme végétative ou de spore.

3- Lors de la troisième phase, dite "mésophile", la température baisse graduellement suivant le déclin de la disponibilité des substrats biodégradables. Lors de cette phase, il y a

un retour à une microflore mésophile; la lignine persiste, les substances humiques s'accumulent et la couleur du compost tourne graduellement au brun (Hoitink *et al.*, 1991).

#### **1.4 Objectifs et méthodologie du travail:**

Les mélanges d'intrants ont été formulés en fonction d'objectifs tels que: produire un compost de qualité à base de résidus chitineux aux propriétés fertilisantes et phytoprotectrices; minimiser le dégagement d'odeurs, minimiser la production de lixiviats et favoriser la rétention de l'azote. Certains paramètres du procédé de compostage tels que l'humidification et la température ont également été ajustés en fonction de ces objectifs.

Le compostage des résidus de fruits de mer tels que poissons et crustacés (riches en azote, potassium et humidité) requiert un agent structurant pouvant absorber l'humidité excessive, équilibrer le rapport C/N pour éviter la perte d'azote sous forme gazeuse (NH<sub>3</sub>) en cours de compostage et augmenter la porosité du compost pour en assurer l'aération adéquate. Les agents structurants typiques sont donc les sciures de bois et la tourbe. Les sciures sont souvent choisies pour leur disponibilité et leur faible coût (Jellum *et al.*, 1995). Au Québec, la disponibilité de la tourbe de sphaigne en fait présentement une option de choix pour plusieurs entreprises.

Le travail de laboratoire pris l'aspect de nombreux essais de compostage à petite échelle (4l) et de développement de méthodes de suivi de l'évolution du compost axées sur sa qualité. La température et le degré d'aération des composts ont été uniformisés à l'aide d'un incubateur et d'une aération forcée. Il a donc été plus facile de comparer entre elles les diverses formulations et leur performance par rapport aux différents paramètres chimiques, biologiques et physiques que nous avons choisis de suivre au cours du compostage.

Différentes formulations et procédés de compostage ont été essayés dans ce projet dans le but d'optimiser l'utilisation de la biomasse chitineuse. Il est donc important de mentionner que d'autres biomasses que les carapaces de crevettes, ont été utilisées dans le compostage. En effet, des essais de compostage ont été faites avec diverses combinaisons de deux et trois intrants dont les carapaces de crevettes, les boues de stations d'épuration, la tourbe, les sciures et composts commerciaux, farine de poisson, feuilles mortes, etc. Aussi, l'essai de divers patrons d'amendement de carapaces de crevettes en cours de compostage a été fait. Les amendements peuvent être faits pour diverses raisons dont permettre une restimulation de l'activité microbienne pour accélérer la dégradation de la biomasse et permettre d'obtenir dans le produit final une matière organique spécifiquement moins dégradée que les autres. Ce dernier objectif s'applique spécifiquement à la chitine contenue dans les carapaces de crevettes.

Une autre série d'essais a été faite avec différents composts commerciaux tels que celui à base de feuilles mortes produit par la Ville de Sherbrooke. L'effet des carapaces de crevettes sur ces composts a été examiné. Les divers paramètres étudiés sont présentés au prochain chapitre. Tous ces essais (nombre total de 90), ont été faits à petite échelle; celle de 4l. La température de ces essais a été imposée à l'aide d'un incubateur pour simuler la hausse de température observée dans de gros volumes de compost. Certains de ces essais ont été repris à grande échelle (120l, température non-imposée) dans les laboratoires du Centre de Recherche Industrielle du Québec (CRIQ).

Il est important de pouvoir évaluer le degré de maturité d'un compost, autant pour limiter les coûts de production que pour assurer un effet fertilisant positif lorsqu'il sera utilisé sur un sol. Mais le processus de compostage étant complexe et dépendant de plusieurs facteurs, il n'existe pas, à l'heure actuelle, un test permettant d'évaluer de façon absolue la maturité d'un compost. Dépendamment des besoins auxquels répondra un compost, différents paramètres

prendront la priorité lorsque viendra le temps d'évaluer sa maturité. J'ai donc dû définir les paramètres chimiques, physiques et biologiques importants au suivi de l'évolution du compost que nous voulions obtenir. Certains de ces paramètres (capacité d'échange cationique, pH, teneur en eau, germination du cresson et rapport C/N) ont pu être suivis grâce à des techniques bien établies. Pour d'autres paramètres, il a fallu adapter quelque peu les techniques à nos besoins, notamment pour la mesure de la conductivité et le dosage de l'ammonium. Finalement, pour l'étude d'autres paramètres, il a fallu développer de nouvelles techniques. C'était notamment le cas pour les dosages de l'activité cellulolytique et des oligomères de chitine (NHF = N-acetylglucosaminidase -Hydrolysable Fraction). Le suivi de ce dernier paramètre est un aspect original au présent projet et n'a jamais encore (au meilleur de nos connaissances) été décrit dans la littérature. Tel que mentionné à la section 1.2.1, il a été démontré que les oligomères de chitine et de chitosane peuvent induire certaines réactions défensives chez les plantes à des concentrations de l'ordre de 10 à 50µg/ml. Le chitosane de haut poids moléculaire est efficace à une concentration de 37,5µg/ml.

Par conséquent, l'objectif principal de cette étude est de produire un compost possédant une quantité semblable de chitine ou de dérivés oligomériques à la fin du compostage. Un tel compost aura alors le potentiel d'avoir des propriétés fongistatiques ou phytoprotectrices. Par la suite, ces propriétés seront évaluées lors d'études en serre et en champ. Alors en résumé, pour atteindre nos objectifs, diverses combinaisons de deux et trois intrants ont été essayées en utilisant: des composts commerciaux, résidus crevettes, boues d'épuration, tourbe, feuilles et sciures de résineux et de feuillus. Aussi, divers patrons d'amendement de carapaces de crevettes en cours de compostage ont été comparés à l'aide d'analyses hebdomadaires. Ces méthodes d'analyse sont expliquées en détail dans le chapitre suivant.

## CHAPITRE 2

### MATÉRIEL ET MÉTHODES

#### 2.1 Appareillage utilisé pour le compostage:

Les essais de compostage ont été faits en bocaux de 4l avec une aération forcée et la température imposée à l'aide d'un incubateur. Dix-huit bocaux entraient à la fois dans l'incubateur. Le fond de chaque bocal était muni d'un dispositif permettant d'aérer la biomasse tout en évitant que les particules de compost n'obstruent l'ouverture. Un réseau de tubulures branché sur une pompe à pression négative et rattaché à chaque bocal assurait l'aération des composts. Cette aspiration créait alors un appel d'air dans les bocaux forçant l'air à entrer par le dessous. L'aération était effectuée à un débit de vingt-cinq changements volumétriques d'air par jour, par bocal. Cette aération suivait un cycle quotidien d'aération de 6 périodes de 50min. Le patron de température imposée à l'aide de l'incubateur fût celui observé lors d'essais à moyenne échelle effectués lors de travaux au CRIQ portant sur nos formulations (figure 1).

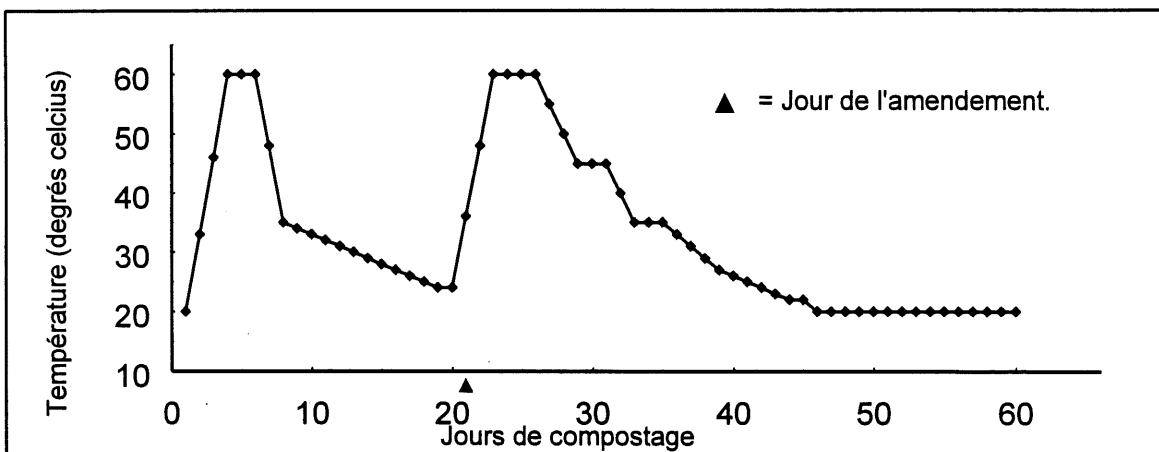


Figure 1: Patron de température imposée.

## **2.2 Biomasses utilisées:**

Les biomasses utilisées au cours de nos expériences ont été analysées et compostées immédiatement après leur achat. Elles étaient des biomasses primaires (non-stabilisées) ou commerciales (stabilisées), respectivement.

Les intrants présentés dans le tableau 1 ont été choisis dans le but de créer diverses formulations de compost à partir de biomasses pouvant compléter les propriétés des résidus de crevettes par leur rapport C/N, leur capacité à retenir l'eau, leur capacité de tamponner le pH du compost et leur structure macroscopique. Les mélanges ont été formulés en fonction d'objectifs tels que: minimiser le dégagement d'odeurs, minimiser la production de lixiviats, favoriser la rétention de l'azote et produire un compost de qualité possédant suffisamment d'oligomères de chitine pour avoir un potentiel fongistatique ou phytoprotecteur tout en optimisant l'utilisation des résidus de crevettes.

Les produits commerciaux analysés directement, sans compostage supplémentaire, sont décrits au tableau 2.

## TABLEAU 1

### Intrants utilisés lors des essais à petite échelle.

Intrant	Provenance	Description
Résidus de crevettes.	Matane (Québec) et Portland (Maine).	Matériel frais, congelé. Humides. C/N = 6,59 et pH = 7,6.
Tourbe brune.	Commerciale (Québec). Marque Premier.	Sèche. C/N = 60,6 et pH = 3,7.
Sciures de feuillus.	Scierie locale.	Sèche. Essences: chêne, frêne, érable et bouleau. Paramètres non-déterminés.
Sciures de résineux.	Scierie locale.	Sèche. Essences: sapin et épinette. C/N = 929 et pH = 6,1.
Feuilles mortes.	Résidentielle.	Sèches. Paramètres non-déterminés.
Boues résiduelles de l'épuration de l'eau.	Station d'épuration de l'eau de Magog (Québec).	Teneur non-problématique en métaux. Humides et non-chaulées. Paramètres non-déterminés.
Poudre d'os, poisson et varech moulus.	Commerciale (Ontario). Marque Green Earth.	Engrais organique "5-6-1" sec. Paramètres non-déterminés.
Urée.	Commerciale.	Granulaire.
Compost commercial "Aquaterre".	Commerciale (Québec), Aquaterre Inc.	Compost à base de tourbe et de résidus de crevettes. C/N = 30,5 et pH = 5,0.
Compost commercial "Écotech".	Commerciale, Écotech. (Québec).	Compost à base de tourbe et de résidus de crabes et de crevettes. Paramètres non-déterminés.
Compost commercial "Botanix".	Commerciale (Québec), Industries Nobel.	Compost à base de fumier de mouton. Paramètres non-déterminés.



## TABLEAU 2

Produits commerciaux analysés directement, sans compostage supplémentaire.

Produit	Provenance	Description
Compost commercial "Aquateerre".	Commerciale (Québec), Aquaterre Inc.	Compost à base de tourbe et de résidus de crevettes.
Compost commercial "Fumier de mouton composté".	Commerciale (Ontario), Canadian Tire Corporation Ltée.	Compost à base de fumier de mouton.
Compost commercial "Fumier de bétail composté".	Commerciale (Ontario), Canadian Tire Corporation Ltée.	Compost à base de fumier de bétail.
Terreau commercial "Hillview - mother earth".	Commerciale (Ontario), Nu-Gro Corp.	Terreau de jardin.
Terreau commercial "Topsoil/Terreau".	Commerciale (Ontario), Canadian Tire Corporation Ltée.	Terreau de jardin.
Terreau commercial "Planet Safe".	Commerciale (Ontario), First Organic Garden Company, Ltée.	Terreau de jardin.
Terreau commercial "Garden Treat".	Commerciale (Ontario), All Treat Farms, Ltée.	Terreau de jardin.

### **2.3 Analyses pour caractériser l'état du compost:**

Les diverses analyses chimiques, biologiques et physiques présentées ici ont eu pour but de caractériser nos composts de manière à évaluer leur degré de maturité, étudier leur évolution en cours de compostage et de les comparer à certains produits commerciaux.

#### **2.3.1 Dosage du carbone organique total et de l'azote total:**

Ces analyses ont été effectuées par les laboratoires Créalab de Rock-Forest (Québec). Le rapport carbone organique total (Walkley, 1946) sur azote total (technique Kjeldhal) (Horwitz, 1980) est un indice général de maturité du compost et sa valeur a tendance à diminuer lors du compostage jusqu'à ce qu'elle atteigne un minimum. Ce rapport est important parce qu'il nous renseigne sur la disponibilité de l'azote dans la matière organique. Notons qu'une source d'azote à relâchement lent est bénéfique pour les plantes.

#### **2.3.2 Dosage de l'ammonium:**

Le dosage de l'ammonium a été fait sur des échantillons de compost de 3g (sec, broyé 10sec à 20000rpm) en suspension dans 30ml d'eau déionisée. Le broyeur utilisé était le TEKMAR A-10 Analytical Mill (type A1052, KB5/10). Après centrifugation, 10ml de ce surnageant étaient ajoutés à 90ml d'eau déionisée pour générer un volume suffisant à l'utilisation de l'électrode. La méthode utilisée a été adaptée pour répondre aux instructions de ACCUMET pour la "Ammonia Ion Selective Electrode". L'appareillage exprimait les résultats de ce dosage en millivolts (mv). L'équation de la courbe de calibration nous permet de convertir les mv en concentration d'ammonium exprimée en mol/l. Ce résultat doit être multiplié par 10 pour prendre en ligne de compte la dilution de 10 lors du test (équation 2.1).

$$(2.1) \quad [\text{NH}_3 \text{ en mol/l}] = 10 \left[ \ln^{-1} \left( (E + 248\text{mv}) / -65 \right) \right]$$

$[\text{NH}_3]$  est la concentration en ammonium en moles par litre (mol/l) de l'infusion utilisée et E est le résultat du dosage en millivolts (mv).

À partir des résultats de l'équation précédente exprimés en mol/l, nous pouvons faire une conversion mathématique de manière à obtenir la teneur en ammonium en mg par g de compost sec analysé:

$$(2.2) \quad [\text{NH}_3 \text{ en mg/g MS}] = \frac{[\text{NH}_3 \text{ en mol/l}] \times 17 \text{ mg NH}_3/\text{mMol} \times 30\text{ml d'infusion}}{3\text{g de compost (dans l'infusion initiale)}}$$

Une équation simplifiée peut être dérivée des équations 2.1 et 2.2:

$$(2.3) \quad [\text{NH}_3 \text{ en mg/g MS}] = 1700 \left[ \ln^{-1} \left( (E + 248\text{mv}) / -65 \right) \right]$$

### **2.3.3 Dosage de la fraction hydrolysable par la N-acétyl-β-glucosaminidase (NHF):**

On entend par NHF, la "Fraction Hydrolysable par la N-acétyl-β-glucosaminidase". La technique vise à évaluer la présence des oligomères de chitine formés de 2 monomères ou plus de NAG. Ces derniers sont reconnus spécifiquement par l'enzyme N-acétyl-β-glucosaminidase (NAGase, EC 3.2.1.30) qui les dégrade jusqu'au monomère (Muzzarelli, 1993). Pour assurer la précision d'un tel dosage tout en assurant une réaction complète, l'enzyme est présent en excès dans le milieu réactionnel. Les produits de la réaction, les

monomères de NAG, peuvent ensuite être spécifiquement détectés par le dosage d'aminosucres de Morgan-Elson proposé par Reissig *et al.* (1955).

Les oligomères de chitine de la taille 2 à 9 sont solubles dans l'eau et peuvent donc être rendus "disponibles" à la NAGase par une solubilisation dans le tampon acétate. Le tampon acétate (50mM, pH 5,5) est utilisé pour assurer les conditions optimales de l'enzyme. La solubilisation a également pour but d'uniformiser la libération des substances colorées des composts ce qui facilite leur comparaison.

Ainsi, dans 6 tubes à vis de 15ml nous avons déposé 0,5g de compost sec et broyé (10sec à 20000rpm). Ensuite nous avons ajouté 3,6ml de tampon acétate 50mM et incubé 4h à 4°C avec agitation. Trois de ces tubes étaient des contrôles et les trois autres, des tests. Dans les trois tubes contrôles, nous avons ajouté 0,400ml de solution GT (glycérol / tampon acétate, 1:1). Dans les trois tubes tests, nous avons ajouté 0,400ml de la solution de NAGase. La provenance de cette solution enzymatique est décrite à la section 2.5. Les tubes témoins et tests ont été incubés à 4°C et 50°C, respectivement, pendant une 1h avec agitation. Nous avons ensuite centrifugé tous les tubes 5 minutes à 3800rpm. Nous avons utilisé 1ml de ces surnageants et 1ml d'eau distillée (dans un tube séparé, c'était le tube "zéro" du spectrophotomètre) pour effectuer la détermination colorimétrique d'aminosucres selon la méthode Morgan-Elson modifiée:

Nous avons pipeté 1,0ml du surnageant et l'avons transféré dans un tube en verre "12 x 75mm". Un "blanc" pour régler le "zéro" du spectrophotomètre a été préparé en remplaçant l'échantillon par 1,0ml d'eau distillée. Ensuite, nous avons ajouté 0,25ml de tampon tetraborate (6,1g de potassium tetraborate tetrahydrate complété à 100ml avec de l'eau distillée). Les tubes ont été bouchés avec une bille. Ensuite, ils ont été immergés pendant

7min dans un bain d'eau bouillante (100°C). Les tubes ont ensuite été refroidis sous un jet d'eau courante. Nous leur avons ensuite ajouté 7ml de réactif chromogénique, préalablement dilué à partir de la solution stock avec de l'acide acétique glacial en proportion 1:10 (la solution stock contient 1,5ml d'eau distillée, 11ml de HCl concentré et 87,5ml d'acide acétique glacial dans lesquels on dissout 10g de 4-(N, N-diméthyl-amino)-benzaldehyde, conservé à 4°C).

Une incubation de 20min à 37°C a suivi. Ensuite, nous avons mesuré la DO à 585nm après avoir fait le "zéro" avec le tube approprié. Nous avons utilisé des cuvettes de 1,0ml en acryl. Une fois la DO mesurée, nous avons trouvé la concentration en NAG correspondant sur la courbe standard, l'avons multipliée par 8 (pour tenir compte des 4ml de milieu réactionnel total et pour l'équivalence par gramme de masse sèche de compost) et avons ainsi obtenu des µg de NAG par g de masse sèche de compost.

Pour établir la courbe standard de Morgan-Elson, nous avons préparé une série d'échantillons ayant de 0 à 220 µg NAG/ml (provenant d'une solution de NAG 400µg/ml) et avons effectué leur dosage tel qu'expliqué plus haut de manière à dresser un graphique de la DO à 585nm en fonction de la concentration en NAG. Une courbe standard typique est montrée à l'annexe A. De plus, lors de la mise au point de cette technique, nous avons déterminé sa variation intrinsèque ( $\sigma=5,25\mu\text{g NAG/g de MS}$ ) dans le but d'évaluer sa précision. Pour ce faire, nous avons effectué 6 analyses de NHF parallèles à partir d'un même échantillon de compost.

#### **2.3.4 Dosage de l'activité cellulolytique:**

Ce test évalue l'intensité à laquelle se produit la dégradation de la cellulose présente dans le compost. La méthode de dosage de Biely *et al.* (1985) a été modifiée par Mme. Josée Goupil (Département de biologie, Université de Sherbrooke), lors de ses travaux de maîtrise portant

sur le compostage des résidus d'émondage. J'y ai apporté à mon tour, une modification en augmentant le volume de tampon acétate utilisé pour assurer une certaine fluidité du milieu réactionnel. L'expression de ces résultats se faisait à l'origine en unités de DO. Des manipulations subséquentes (décrites à la section 3.7.1) utilisant le dosage des sucres réducteurs (présenté à la section 2.4) nous ont permis de les exprimer en unités internationales d'activité enzymatique (U). Voici le protocole:

Dans 4 tubes à vis de 15ml, nous avons déposé 0,25g de compost frais. Nous avons ensuite ajouté 2,0ml de tampon acétate 50mM, pH 5,5. Deux de ces tubes étaient des contrôles (appelés CMC-T) et les deux autres, des tests (appelés OBR-T). Dans les deux tubes contrôles, nous avons ajouté 1,0ml de solution CMC (60mg de carboxyméthylcellulose dans 15ml de tampon acétate). Dans les deux tubes tests, nous avons ajouté 1,0ml de solution OBR (60mg de ostazin brilliant-red hydroxyéthylcellulose dans 15ml de tampon acétate). Deux tubes supplémentaires ont été préparés pour tenir en ligne de compte la DO à 550nm produite par la solution OBR et la solution CMC à elles seules. Le premier (appelé CMC témoin) contenait 1,0ml de solution CMC et 2,0ml de tampon acétate. Le deuxième (appelé OBR témoin) contenait 1.0ml de solution OBR et 2,0ml de tampon acétate. Tous les tubes ont été incubés à 37°C pendant 45min avec agitation. Suite à cette incubation, nous avons ajouté rapidement 9,0ml de la solution "EA" (éthanol-acétone 2:1) à chaque tube et laissé reposer 20min. Ensuite, nous avons centrifugé tous les tubes 5min à 3800rpm et mesuré la DO des surnageants à 550nm. La solution "zéro" utilisée pour le spectrophotomètre était le tampon acétate 50mM à pH 5,5.

La dégradation du substrat par les enzymes cellulolytiques libère en solution la partie colorée (OBR) de l'ostazin brilliant-red hydroxyéthylcellulose. Celle-ci peut être dosée suite à la précipitation à l'éthanol-acétone de l'hydroxyéthylcellulose et de l'OBR-hydroxyéthylcellulose non-dégradée. Un échantillon supplémentaire du compost testé doit être prélevé pour

déterminer la teneur en eau du compost. Ceci nous permet de ramener les résultats trouvés par gramme de masse sèche de compost pour pouvoir comparer les différents composts.

Avant d'effectuer les calculs qui suivent, la DO de chaque tube doit être ramenée en DO par gramme de masse sèche de compost en utilisant les poids respectifs du compost de ces tubes et la teneur en eau du compost frais au moment du prélèvement des échantillons. On peut alors calculer deux valeurs: celles de la DO moyenne nette par gramme de masse sèche de compost des tubes contenant l'OBR et celle des tubes contenant le CMC. La première est obtenue en soustrayant la DO du tube OBR témoin à la moyenne de la DO (par gramme de MS de compost) des tubes OBR-T. La deuxième est obtenue en soustrayant la DO du tube CMC témoin à la moyenne de la DO (par gramme de MS de compost) des tubes CMC-T.

La différence entre la DO moyenne nette (par gramme de MS) des tubes contenant l'OBR et celle des tubes contenant le CMC exprime l'activité enzymatique cellulolytique présente dans le compost à un moment précis du compostage et on la divise par 45min pour l'exprimer en DO/h/g MS. Cette technique réduit au maximum l'interférence (en termes de DO) produite par la coloration naturelle du compost et la DO pouvant être intrinsèque à l'utilisation du CMC et de l'OBR. Elle permet donc de comparer avec rigueur des résultats provenant de composts différents et de séries d'analyses différentes.

### **2.3.5 Évaluation de la phytotoxicité par le test de germination du cresson:**

Ce test a pour but d'évaluer la phytotoxicité du compost. Le cresson est très sensible aux substances phytotoxiques, sa germination est donc facile à influencer. La phytotoxicité d'un compost donné diminue généralement avec le temps lors du compostage et provient principalement des acides organiques tels que l'acide propionique, l'acide acétique, plusieurs

acides benzoïques et phénylacétiques. En général, la matière organique non-stabilisée d'origine végétale a une certaine toxicité envers les plantes (Mustin, 1987). Plus la matière est dégradée, humifiée, plus elle sera bénéfique au développement des plantes.

Le test de germination de graines de cresson consiste en une préincubation des graines puis à une exposition de ces dernières aux extraits hydrosolubles de composts. Les graines "témoin" sont exposés à de l'eau distillée. Nous avons observé le pourcentage de germination à 96, 144, puis à 184h d'incubation. La longueur des radicules a été mesurée à 184h. Voici la procédure pour évaluer la phytotoxicité d'un compost, d'après la méthode proposée par Beauchemin *et al.* (1991).

Nous avons préparé un peu plus de 40 graines de cresson (*Lepidium sativum* variété "curly cress") par compost à tester et 20 graines supplémentaires comme suit. Nous avons stérilisé les graines dans une solution d'hypochlorite de sodium 2% (environ 20ml), avons agité un peu. Ensuite, nous avons décanté et fait 3 rinçages à l'eau distillée stérile. Ensuite, nous avons déposé les graines dans un pétri contenant deux papiers whatman #1 stériles et humectés avec 2,5ml d'eau distillée stérile. Nous avons incubé ces dernières à l'obscurité, à 22°C pendant 20h. Le taux d'humidité de l'air dans la chambre de croissance était à un maximum (99%) pour éviter le dessèchement des graines.

Pour la préparation des extraits, nous avons déposé 1,0g de compost sec et broyé (10sec à 20000rpm) dans un tube à vis de 50ml contenant 25ml d'eau distillée. Les tubes ont été incubés à l'obscurité avec agitation pendant 15h. Après la période d'agitation des infusions, nous les avons centrifugées à 3800rpm pendant 10min puis avons décanté les fractions liquides dans des tubes en verre pour ensuite les autoclaver à 121°C pendant 20min. Ceci a eu pour but d'inactiver les enzymes et microorganismes pouvant affecter la germination des graines et ainsi fausser les résultats.



À ce moment, nous avons déjà préparé une série de 5 pétris (identifiés A à E) par compost à tester et une série pour le témoin et déposé 2 papiers whatman #1 stériles au fond de chacun. Quand la préincubation des graines de cresson fût terminée, nous avons déposé 8 graines de cresson par pétri sur le papier whatman. Ensuite, nous avons déposé 2,5ml de l'infusion stérile dans les pétris correspondant aux composts et 2,5ml d'eau distillée stérile dans 5 pétris témoins. Les pétris ont ensuite été incubés à l'obscurité, à 26°C pendant 184h pour observer le pourcentage de germination à 96, 144 et 184h et la longueur des radicules à 184h.

### **2.3.6 Évaluation de la capacité d'échange cationique (CEC):**

La capacité d'échange cationique est la capacité d'une matière organique de capter réversiblement les cations. L'humus a une forte CEC et fixe les ions minéraux nutritifs tels que les cations  $K^+$  et  $Ca^{2+}$  et les phosphates de manière à les rendre disponibles aux plantes (Mustin, 1987). La CEC est un indice général de la maturité d'un compost et sa valeur a tendance à augmenter graduellement lors du compostage puis à plafonner. Voici la procédure de mesure de la CEC d'après la méthode proposée par Harada et Inoko (1980):

Nous avons déposé environ 200mg de compost séché et broyé (10sec à 20000rpm) dans un tube à vis de 15ml et noté le poids exact. Nous avons ensuite ajouté 10ml de HCl (0,05N, dans l'eau déionisée) aux tubes et agité à la température de la pièce 20min. Le contenu des tubes ont ensuite été transférés individuellement dans un entonnoir à filtration en verre fritté (Fisher, 47mm) ayant deux filtres en microfibres de verre (MSI 1,0 micron et Whatman GF/D, tous deux de 47mm de diamètre) et ensuite nous avons rincé le tube avec une solution de HCl pour n'y laisser aucune particule de compost. La quantité totale de HCl utilisé était de 50ml. Nous avons ensuite ouvert le boyau d'échappement puis filtré sous pression négative. L'échantillon a été lavé jusqu'à ce que le filtrat soit libre d'ions chlorure en utilisant 150ml d' $H_2O$  déionisée. Le boyau a été fermer et 25ml de la solution d'acétate de baryum

(Ba(OAc)<sub>2</sub> 1N, pH 7,0 en tampon acétate 50mM de pH 5,5) a été ajouté avant de laisser reposer 1h. Pendant ce temps, nous avons changé l'erenmeyer de recueil. Nous avons ensuite ouvert le boyau, filtré sous vide et ajouté une autre portion de 25ml de la solution de Ba(OAc)<sub>2</sub> et filtré de nouveau. L'échantillon a ensuite été lavé avec 150ml d'eau distillée. Le filtrat fût ensuite titré avec du NaOH 0,05N dans l'eau déionisée jusqu'au point d'inflexion en utilisant 300µl de bleu de thymol (25mg dans 10ml d'éthanol absolu). La solution tournait du jaune au vert puis au turquoise et au bleu royal. Le contrôle pour cette titration était une solution formée de 50ml de Ba(OAc)<sub>2</sub> et 150ml d'eau déionisée. Cette dernière fût titrée de la même façon que les autres échantillons mais ne requiert aucune incubation.

La CEC est exprimée en termes de milliéquivalents de NaOH nécessaires pour titrer le deuxième filtrat. On doit donc soustraire le volume de NaOH 0,05N nécessaire à la titration du témoin à celui de chaque échantillon. Par la suite, le volume de NaOH requis pour la titration d'un échantillon donné doit être divisé par le poids exact de ce dernier puis multiplié par 100 de manière à exprimer la CEC en milliéquivalents de NaOH requis pour la titration par 100g de masse sèche de compost. Voici l'équation complète:

$$(2.4) \quad \text{CEC} = \frac{(X) - (\text{Tém.})}{p} \times 100g$$

CEC est la capacité d'échange cationique de l'échantillon en milliéquivalents de NaOH par 100g de MS de compost.

X est le volume de NaOH 0,05N exprimé en ml utilisé lors de la titration pour l'échantillon de compost.

Tém. est le volume de NaOH 0,05N exprimé en ml utilisé lors de la titration du témoin.

p est le poids exact exprimé en g de l'échantillon de compost sec et broyé

### **2.3.7 Mesure de la conductivité électrique:**

La conductivité électrique d'une infusion de compost augmente lors du compostage jusqu'à ce qu'elle atteigne un maximum. L'évaluation de la conductivité électrique est un test préalable à celui de la germination des graines de cresson puisqu'une conductivité électrique supérieure à 4ms/cm peut devenir un facteur d'inhibition de la germination des graines de cresson. La méthode utilisée fût celle prescrite dans le manuel de l'utilisateur pour le "conductimètre HACH 44600-00" et dérivée, avec modifications mineures, de la méthode proposée par le Conseil des productions végétales du Québec (1988).

Nous avons déposé deux échantillons de 3g de compost sec et broyé (10sec à 20000rpm) dans 2 tubes à vis de 50ml auxquels nous avons ajouter 30ml d'eau déionisée. Nous les avons ensuite agités à la température de la pièce pendant 30min, centrifugés à 3800rpm pendant 5min et finalement, nous avons décanté 20ml de surnageant de chaque tube dans un bécher de 50ml. La dernière étape était d'y mesurer directement la conductivité selon les instructions du manuel de l'utilisateur.

### **2.4 Dosage des sucres réducteurs:**

Le dosage des sucres réducteurs selon la méthode de Nelson-Somogyi (Spiro, 1966) a été effectué afin de pouvoir exprimer l'activité cellulolytique (section 2.3.4) en unités internationales d'activité enzymatique plutôt qu'en unités arbitraires de DO. Les résultats de ces dosages sont décrits à la section 3.7.1.

## **2.5 Production de la $\beta$ - N-acétylglucosaminidase:**

La production de l'enzyme nécessaire pour effectuer le dosage de la NHF (section 2.3.3) a été réalisée à l'aide des souches d'actinomycètes C8 et C11 isolées lors de nos premiers essais de compostage à base de résidus de crevettes. Ces souches n'ont pas été identifiées ni caractérisées. Elles ont été choisies pour leur performance à produire la NAGase.

Nous avons déposé une bouclée de spores provenant d'une culture des souches C8 ou C11 sur boîte de pétri TSA (tryptic soy agar) dans un tube eppendorf stérile (1,5ml) contenant 1,0ml de saline physiologique et détergent biologique (NaCl 0,9%, "Tween 80" 1,0% stérile). Nous avons ensuite fait subir un choc thermique aux spores en incubant le tube 10min à 50°C. Nous avons ensuite inoculé 25ml de milieu de culture TSB dans un erlenmeyer de 125ml en y transférant toute la suspension de spores. Nous avons ensuite incubé la culture à 30°C et mesuré la DO à 560nm d'un échantillon de 1,0ml prélevé aux 6h à partir de 72h. Le niveau de NAGase atteignait habituellement son maximum après 96h d'incubation.

Le choc thermique est la pierre angulaire de ce protocole. Il a pour but d'induire la sporulation des actinomycètes de manière à "synchroniser" la culture bactérienne. Une telle synchronisation augmente les chances d'observer un pic d'activité enzymatique au cours du temps. En outre, ce pic est habituellement plus élevé que celui qu'on aurait pu observer si la culture était asynchrone. La raison est la suivante : les actinomycètes peuvent exister sous deux formes soit; la forme végétative (croissance mycéliale active) et la forme sporulée (croissance interrompue, latence). Le stock de spores établi précédemment contenait les deux formes d'actinomycètes. La prolifération bactérienne d'un stock de spores transféré à un milieu de culture frais est plus spontanée et beaucoup moins graduelle lorsqu'il a été soumis à un choc thermique puisqu'il est composé d'une forte proportion de spores par rapport à la forme mycéliale. La germination de ces spores est rapidement induite lorsque les conditions

sont adéquates. Par conséquent, le début du temps de culture est marqué presque exclusivement par une croissance explosive de mycélium, ce qui a une répercussion immédiate sur la performance enzymatique de la culture.

### **2.5.1 Dosage de l'activité $\beta$ - N-acétylglucosaminidase dans les cultures microbiennes:**

Nous avons déposé environ 1,5ml d'une culture liquide dans un tube eppendorf à l'aide d'une pipette pasteur stérile pour centrifuger 5min. Le surnageant ainsi obtenu constituait l'échantillon soumis au dosage. Pour chaque échantillon, nous avons préparé deux tubes contrôle (C) en ajoutant dans l'ordre: 1,0ml de solution de glycine (0,5M, pH 11,0), 0,5ml d'échantillon et 0,5ml de substrat *p*NP (2mM dans le tampon acétate 50mM, pH 5,5). Ces tubes n'avaient pas besoin d'être incubés. Aussi, nous avons préparé deux tubes test (T) en ajoutant dans l'ordre: 0,5ml de substrat *p*NP 2mM préchauffé à 50°C et 0,5ml d'échantillon. Les tubes T ont ensuite été incubés à 50°C pendant 30min puis nous avons interrompu la réaction en ajoutant 1,0ml de solution de glycine. Un cinquième tube servant à établir le "zéro" du spectrophotomètre contenait 1,0ml de solution de glycine, 0,5ml de substrat *p*NP et 0,5ml d'eau distillée. Ce tube n'avait pas besoin d'être incubé à 50°C. Nous avons ensuite lu la densité optique des solutions à 400nm dans des cuvettes acryliques.

Le calcul de l'activité enzymatique (détaillé à la page suivante) exprime les résultats en milliunités (mU) d'activité enzymatique internationales. Une unité (U) équivaut à 1  $\mu$ mole de *p*NP produite par millilitre de surnageant de culture et par minute de réaction enzymatique.

$$(2.5) \quad AE = \frac{(DO_{\text{test}} - DO_{\text{contrôle}}) (2,0 \times 10^{-3}) (1 \times 10^6 \mu\text{mole/mole}) (1 \times 10^3 \text{ mU/U.i.})}{(18,1 \times 10^3 \text{ (DO/mol/l de pNP)}) (30\text{min}) (0,5\text{ml SN})}$$

AE est l'activité N-acétyl- $\beta$ -glucosaminidase du surnageant de culture exprimé en mU/ml

$DO_{\text{test}}$  est la DO moyenne mesurée dans les deux tubes tests.

$DO_{\text{contrôle}}$  est la DO moyenne mesurée dans les deux tubes contrôles.

$2,0 \times 10^{-3}$  l est le volume réactionnel total.

$1 \times 10^6 \mu\text{mole/mole}$  est le facteur de conversion en  $\mu\text{moles}$ .

$1 \times 10^3 \text{ mU/U}$  est le facteur de conversion en milliunités d'activité enzymatique internationales.

$18,1 \times 10^3 \text{ (DO/mol/l de pNP)}$  est le coefficient d'extinction molaire (à 400nm) du produit libéré lors de la réaction, le *p*-nitro-phénol.

30min est le temps de réaction enzymatique.

0,5ml SN est le volume de l'échantillon de surnageant de la culture testée.

L'équation (2.5) peut être réduite à l'équation (2.6) pour simplifier le calcul. Il faut noter cependant que l'équation (2.6) ne peut être utilisée qu'avec le respect rigoureux des protocoles décrits à la section 2.5 et dans la section présente. Une modification de ces protocoles nécessiterait un rajustement des calculs.

$$(2.6) \quad AE = k (DO_{\text{test}} - DO_{\text{contrôle}})$$

où  $k = 7,37$

## CHAPITRE 3

### RÉSULTATS

#### **3.1 Procédé de compostage:**

Plusieurs combinaisons de deux et trois intrants ont été essayées lors de la formulation des composts. Les intrants utilisés sont présentés au tableau 1. Les formulations ont été conçues de façon à avoir un équilibre entre les diverses composantes de ces dernières en ce qui concerne principalement leur capacité à retenir l'eau, leur capacité de tamponner le pH du compost et leur structure macroscopique (pour éviter la compaction, ce qui nuirait à l'aération). Aussi, les formulations ont été conçues de manière à obtenir un rapport C/N initial autour de 40 (Campbell *et al.*, 1990). Plusieurs mélanges se sont avérés inacceptables et ont été rejetés pour les essais subséquents parce que ces composts avaient une production excessive de lixiviats, d'odeurs, une tendance à la compaction ou une faible rétention d'humidité. Par contre, d'autres essais ont révélé d'excellentes formulations, elles sont présentées aux tableaux 3.1 et 3.2 et seuls les résultats leur étant pertinents seront discutés dans ce chapitre.

Suite à la mise au point de formulations acceptables, du procédé de compostage (durée, aération, et patron de température) et des méthodes de suivi du compostage, deux séries de compostage majeures ont été effectuées. La première était composée de 5 répétitions des formulations UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> et la deuxième des composts commerciaux "Aquaterre" (à base de crevettes et tourbe), "Écotech" (à base de crevettes, crabes et tourbe) et "Botanix" (à base de fumier de mouton) auxquels nous avons ajouté des résidus de crevettes. Les résultats présentés dans ce chapitre proviennent de ces deux séries. En tout, 90 essais de compostage à l'échelle de 4l ont été effectués dans le cadre de mon projet.

### **3.2 Formulation des composts:**

Tout au long du projet global dans lequel s'inséraient ces travaux, les réunions de l'équipe de recherche ont apporté de nouvelles perspectives et de nouveaux éléments quant aux approches à envisager pour atteindre nos buts. Les formulations suivantes ont été retenues non-seulement pour leur "performance" vis-à-vis nos critères biologiques mais aussi parce qu'ils répondaient à diverses exigences pertinentes au projet global telles que la constance de qualité, la disponibilité des intrants, la perception du public de ces derniers et la possibilité de l'application à l'échelle industrielle.

## **TABLEAU 3.1**

**Formulations des composts à base d'intrants bruts.**

Compost	Intrants	Type d'amendement	Nombre de répliquas
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	Tourbe brune et sciures de résineux en proportion volumétrique 1:1 et une quantité d'azote (sous forme d'urée) équivalente à celle provenant des résidus de crevettes dans un mélange CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> .	Ajout de 33% de résidus de crevettes* au jour 21.	5 (A à E)
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	Résidus de crevettes, tourbe brune et sciures de résineux en proportion volumétrique 1:2:2.	Ajout de 33% de résidus de crevettes* au jour 21.	5 (A à E)
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	Résidus de crevettes, tourbe brune et sciures de résineux en proportion volumétrique 2:9:9. Les résidus de crevettes forment donc 10% du mélange.	Ajout de 33% de résidus de crevettes* au jour 21.	5 (A à E)

\* Ajout d'une quantité de résidus de crevettes équivalente en poids sec à 33% du poids sec total du compost.



**TABLEAU 3.2****Formulations des composts à base de résidus de crevettes et de composts commerciaux.**

Compost	Description	Type d'amendement	Nombre de répliquas
Aquaterre	Compost commercial Aquaterre à base de résidus de crevettes et de tourbe.	Ajout de 33% de résidus de crevettes* au début du compostage.	2 (A et B)
Aquaterre	Compost commercial Aquaterre à base de résidus de crevettes et de tourbe.	Ajout de 15% de résidus de crevettes* au début du compostage.	2 (C et D)
Écotech	Compost commercial Écotech à base de résidus de crevettes et crabes et de tourbe.	Ajout de 33% de résidus de crevettes* au début du compostage.	2 (A et B)
Écotech	Compost commercial Écotech à base de résidus de crevettes et crabes et de tourbe.	Ajout de 15% de résidus de crevettes* au début du compostage.	2 (C et D)
Botanix	Compost commercial Botanix à base de fumier de mouton.	Ajout de 33% de résidus de crevettes* au début du compostage.	2 (A et B)
Botanix	Compost commercial Botanix à base de fumier de mouton.	Ajout de 15% de résidus de crevettes* au début du compostage.	2 (C et D)

\* Ajout d'une quantité de résidus de crevettes équivalente en poids sec à 15% ou 33% du poids sec total du compost, selon le cas.

### **3.3 Évolution du compostage - composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> amendés à 33%:**

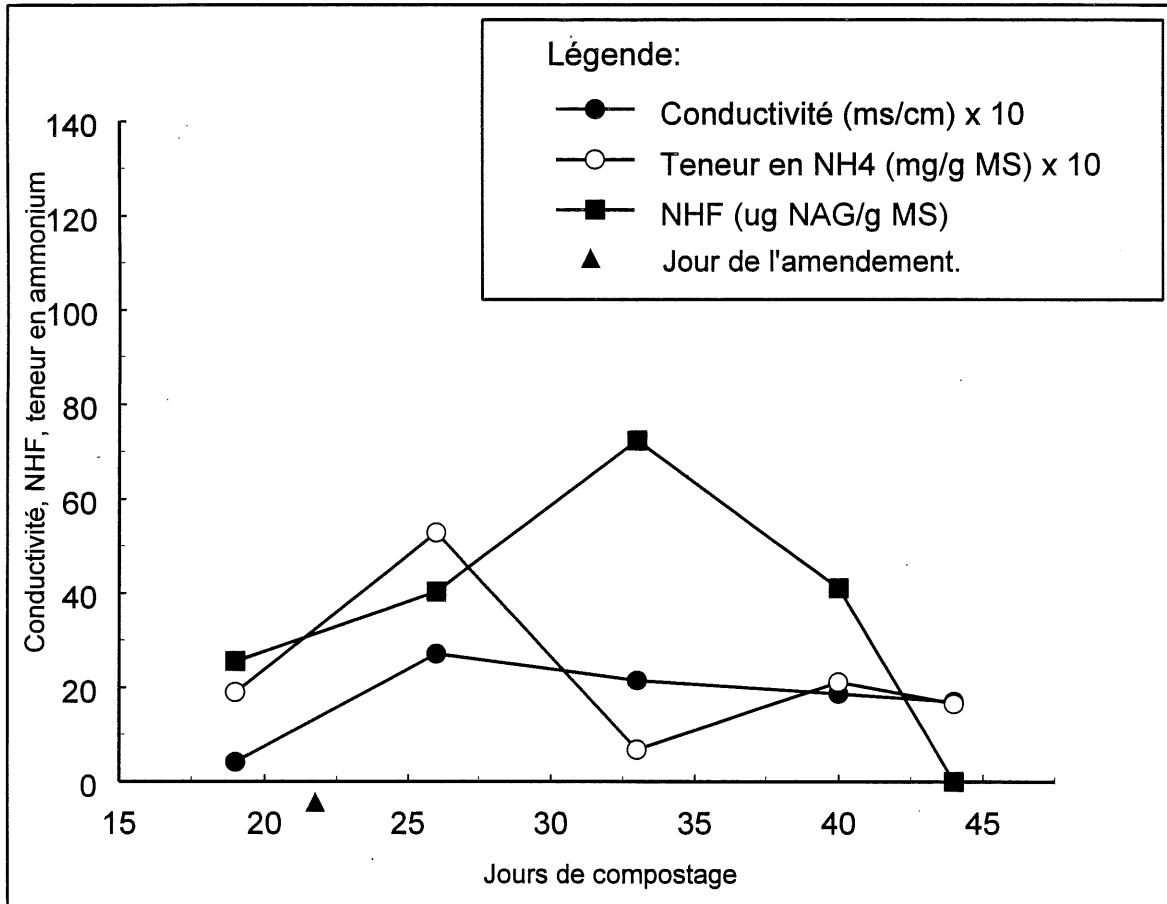
Les figures 2.1 à 2.3 illustrent le comportement typique au cours du compostage des composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> vis-à-vis la conductivité, la teneur en ammonium et la NHF. Au début du compostage, un pic de conductivité se produit. Un amendement en résidus de crevettes à 33% poids sec - poids sec est suivi d'un pic de NHF puis un creux de teneur en ammonium survient. Finalement, on note un pic de la teneur en ammonium. Ce comportement a été observé pour les trois types de compost. Une seule des 5 répétitions de chaque formulation est représentée.

Il faut noter que bien que la valeur absolue (en tous points au cours du temps) de la conductivité soit presque identique entre répliquats, ce n'est pas le cas pour la NHF ni la teneur en ammonium. Pour la NHF, cette observation peut être expliquée par le fait que l'accumulation d'oligomères de chitine (formes transitoires de chitine en voie de dégradation) est influencée par le processus de compostage, et ce dernier, de par sa nature dynamique, peut évoluer différemment entre répliquats. Pour la teneur en ammonium, on voit qu'avant l'amendement, les composts CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> ont une teneur en ammonium beaucoup plus grande que le compost UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. En effet, plusieurs composantes des carapaces de crevettes, dont les protéines, sont dégradées très rapidement favorisant ainsi le relâchement d'azote sous forme d'ammonium.

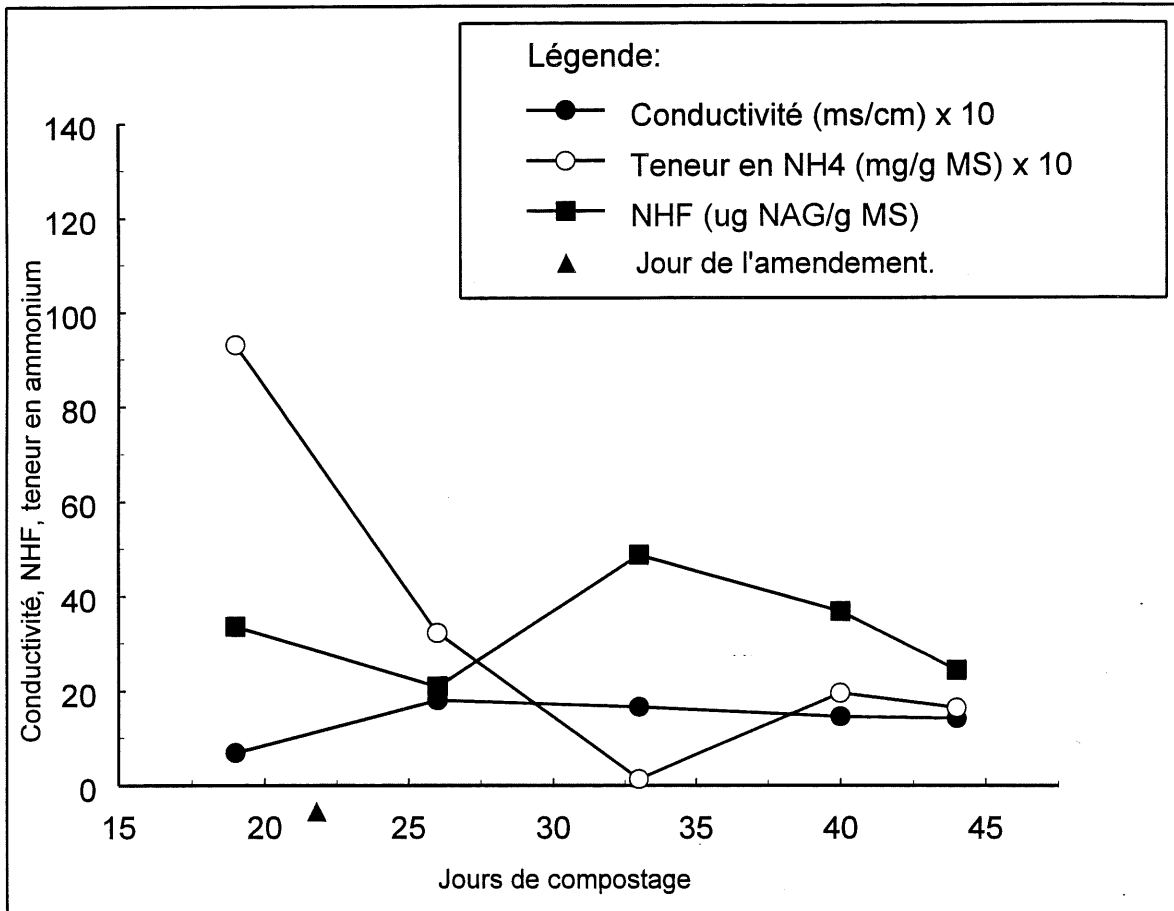
### **3.4 Évolution du compostage - composts commerciaux amendés à 15% et 33%:**

Les résultats présentés aux figures 3.1 à 3.6 proviennent d'une série d'essais où nous avons utilisé comme formulation initiale des composts commerciaux auxquels nous avons ajouté des résidus de crevettes en proportion 15% ou 33% poids sec - poids sec. Trois composts

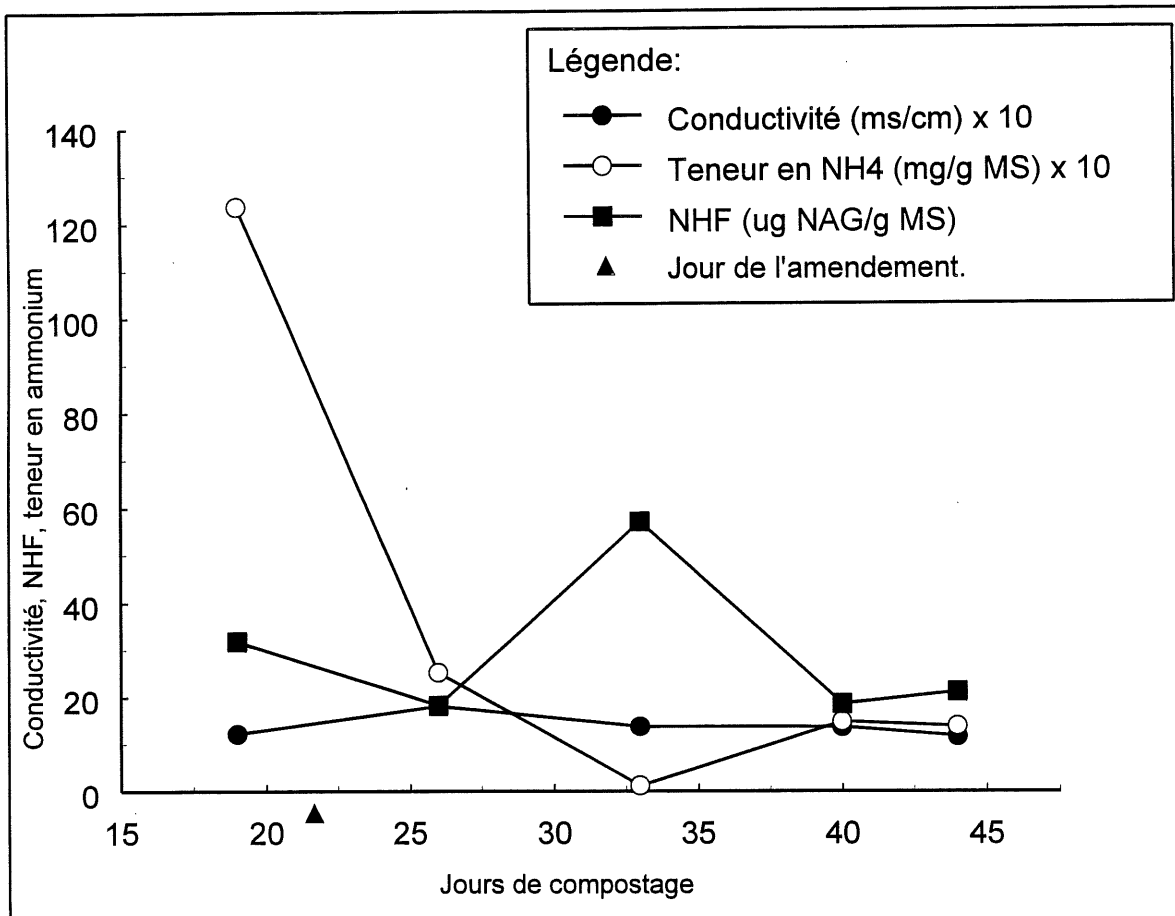
commerciaux ont été utilisés et deux répétitions de chaque type d'amendement ont été faites, pour un total de 12 essais (3 composts x 2 types d'amendement x 2 répétitions). Ces figures illustrent le comportement typique au cours du compostage des composts commerciaux "Aquateerre", "Écotech" et "Botanix" vis-à-vis la conductivité, la teneur en ammonium et la NHF. Une seule des répétitions de chaque formulation est représentée. À la lumière de ces résultats, on voit qu'un pic de NHF survient en même temps qu'un creux de la teneur en ammonium quelque soit l'importance de l'amendement (15% ou 33% poids sec - poids sec). Contrairement aux composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> on l'absence d'un pic de conductivité au début du compostage pour les composts commerciaux. Une faible conductivité est caractéristique des composts stabilisés ou en voie de stabilisation (Haug, 1993).



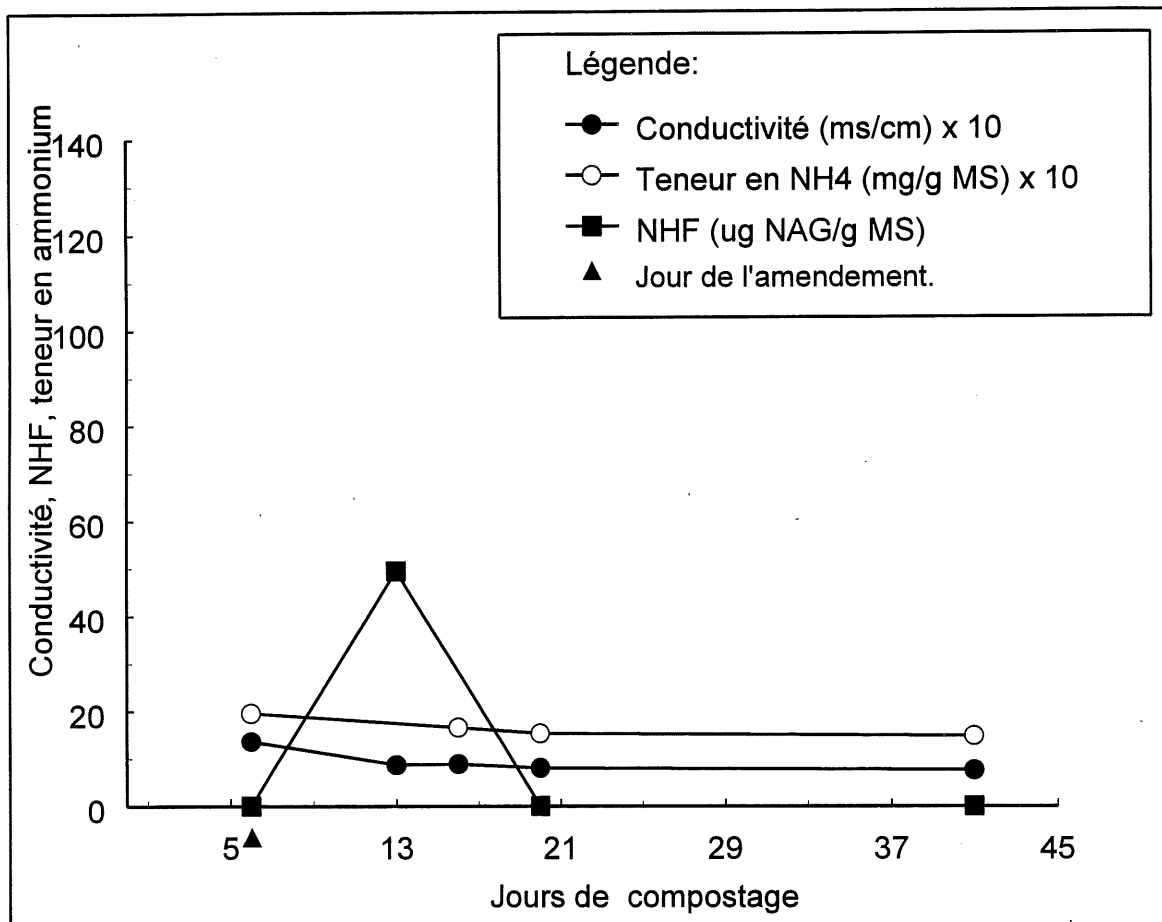
**Figure 2.1: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts  $UT_2S_2$  (réplicata A).**



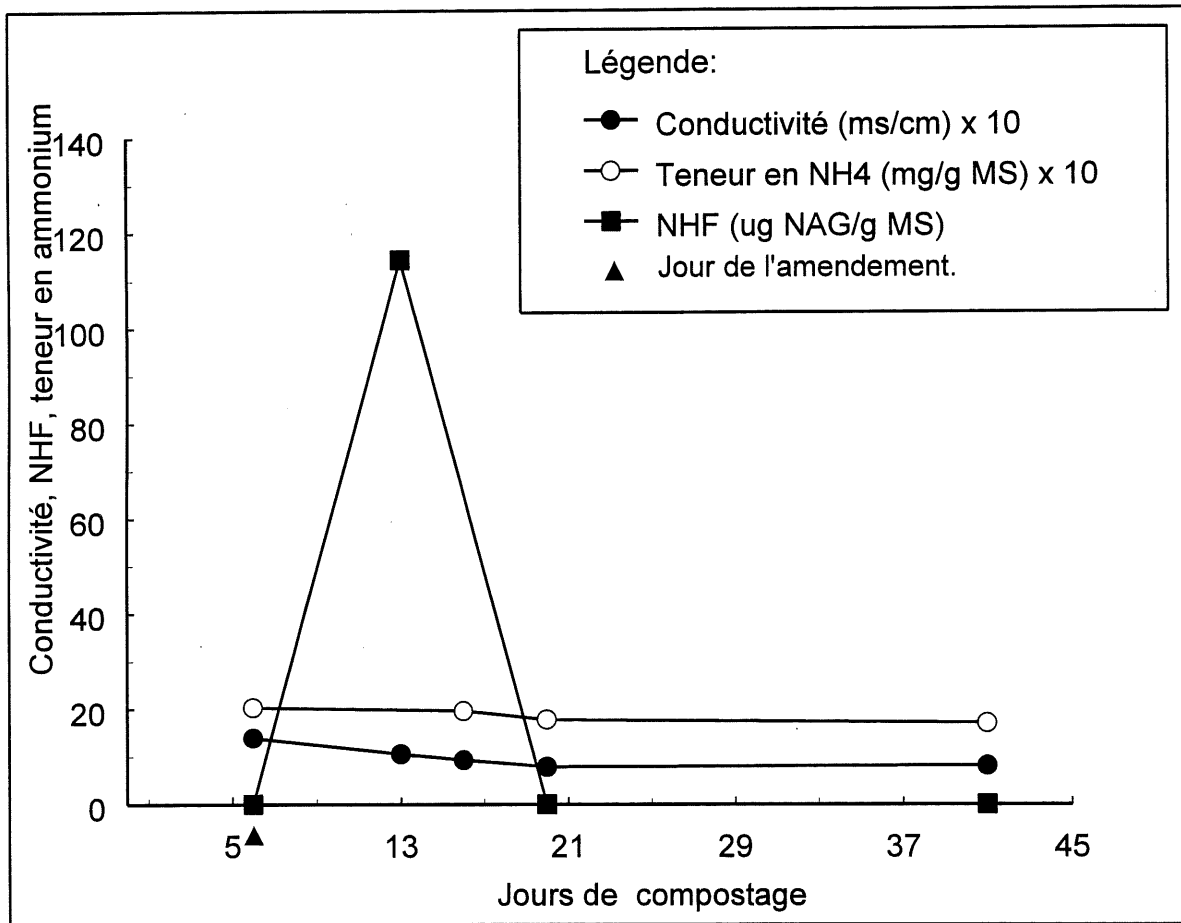
**Figure 2.2: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> (réplicata D).**



**Figure 2.3: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> (réplicata A).**

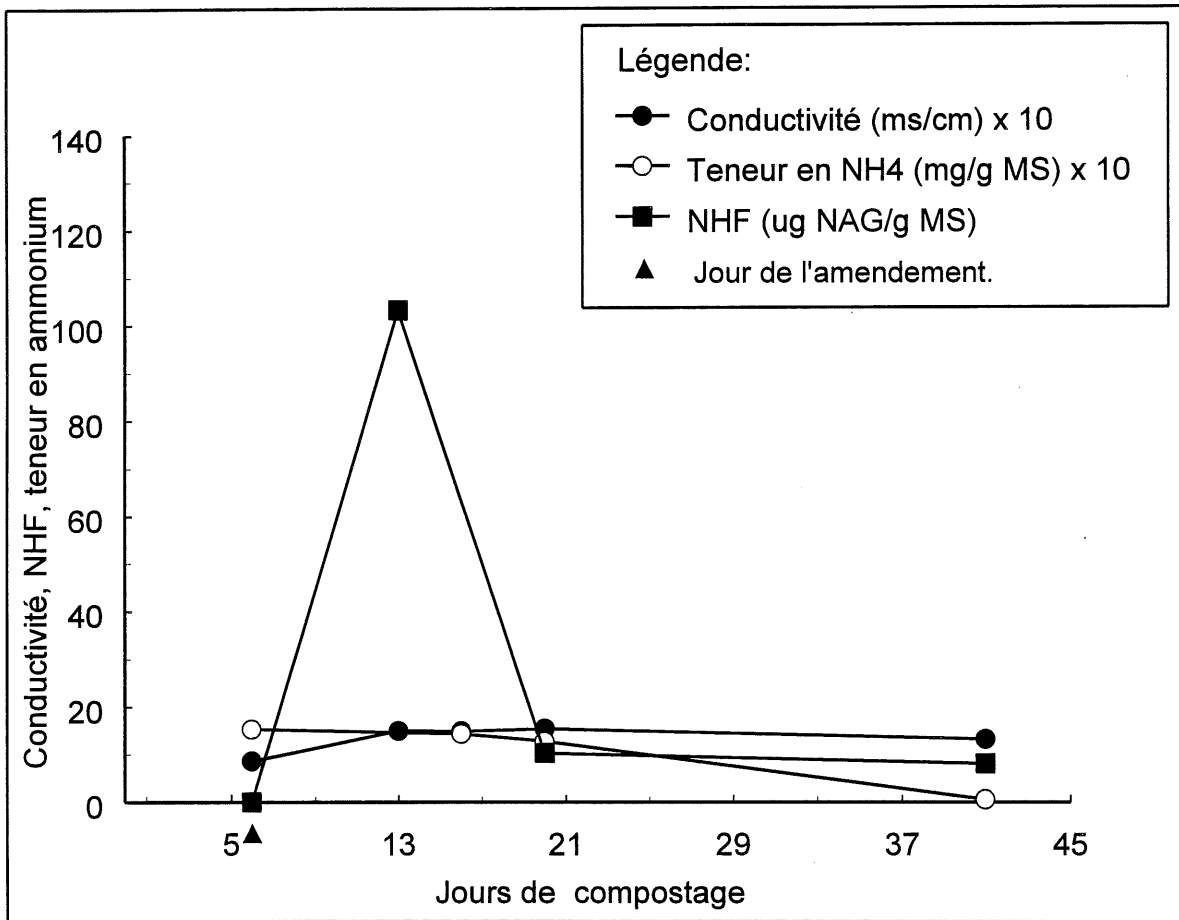


**Figure 3.1: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Aquaterre" amendés à 15% (réplicata A).**

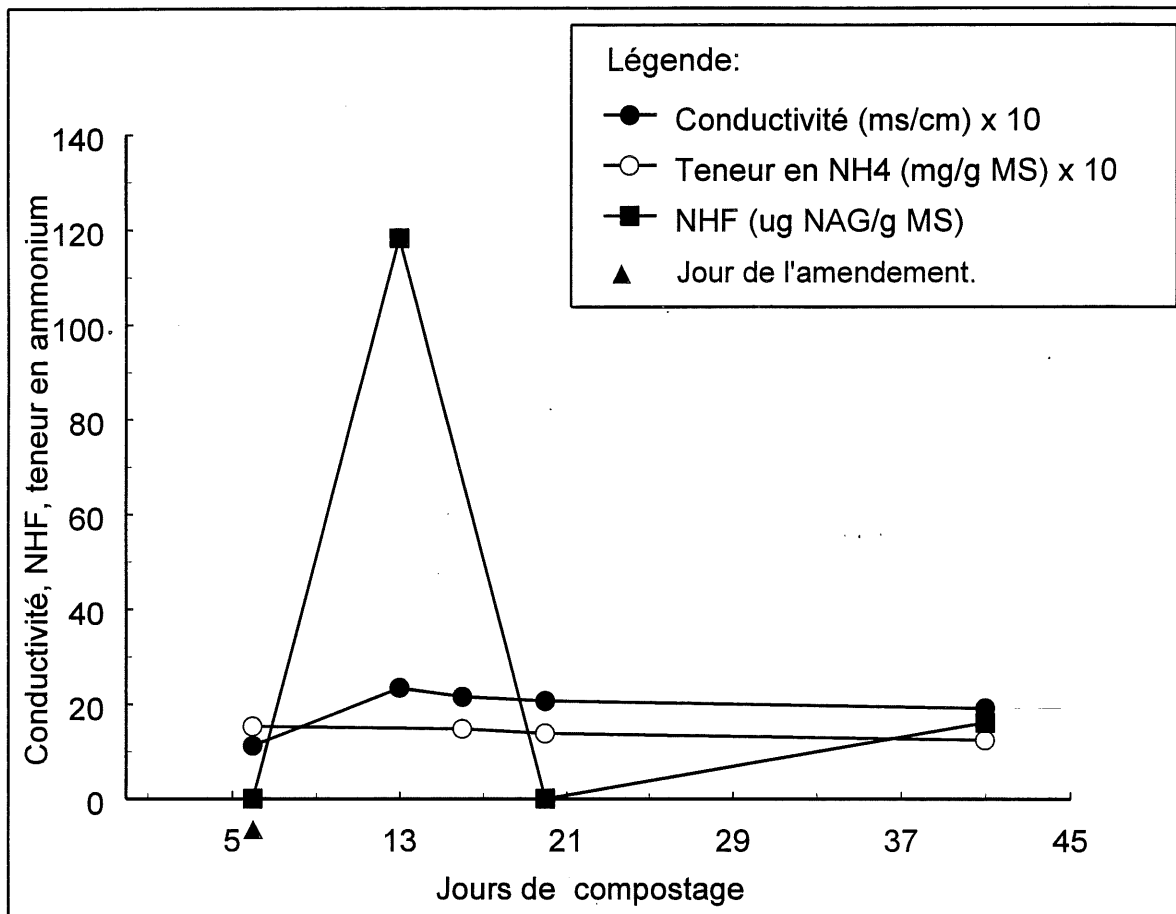


**Figure 3.2: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Aquaterre" amendés à 33% (réplicata C).**

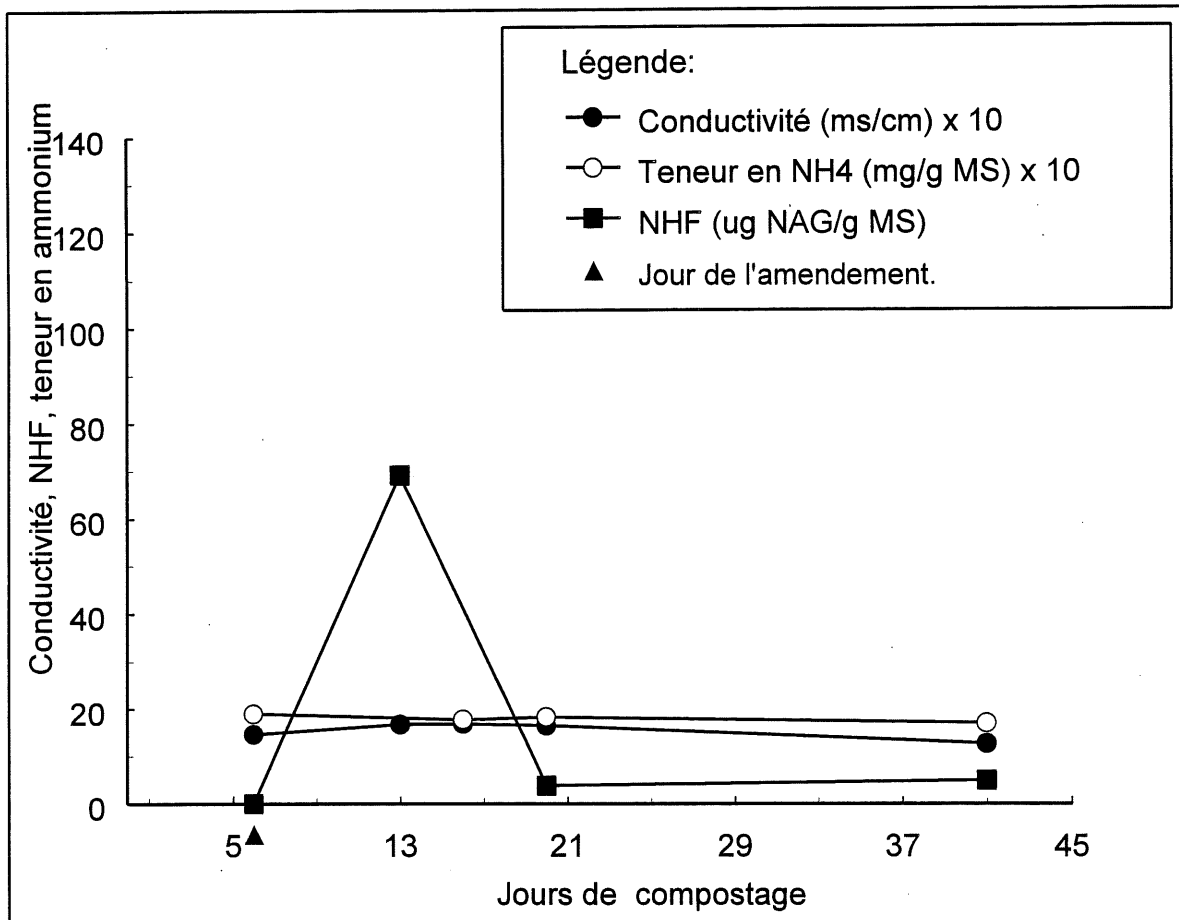




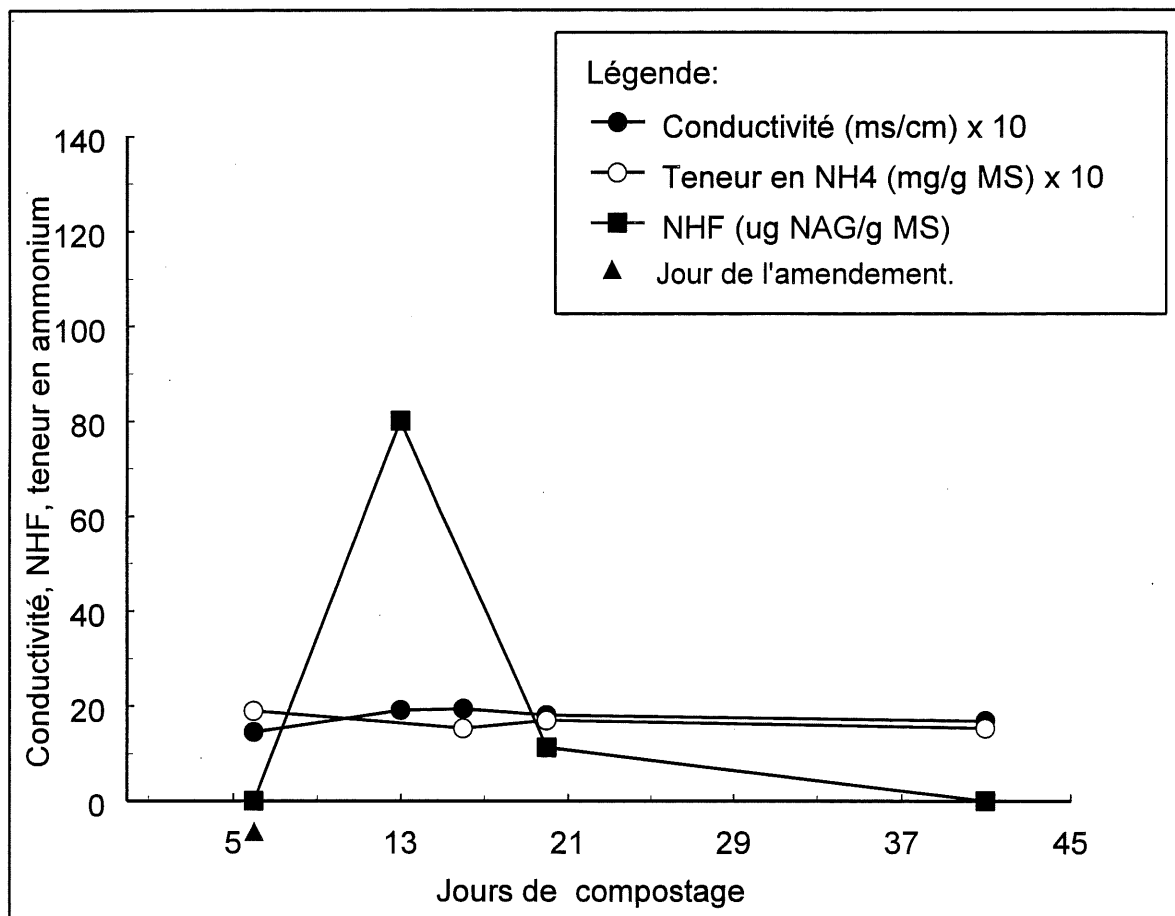
**Figure 3.3: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Écotech" amendés à 15% (réplicata B).**



**Figure 3.4: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Écotech" amendés à 33% (réplicata C).**



**Figure 3.5: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Botanix" amendés à 15% (réplicata A).**



**Figure 3.6: Conductivité, teneur en ammonium et NHF en cours de compostage - composts "Botanix" amendés à 33 % (réplicata C).**

### **3.5 Optimisation de l'utilisation de la biomasse chitineuse:**

La demande croissante pour les résidus chitineux nous a poussé à optimiser l'utilisation de ces derniers pour limiter les coûts de production d'un tel compost à l'échelle industrielle. Nous avons examiné deux approches pour diminuer la proportion de carapaces de crevettes utilisées dans la formulation initiale et lors de l'amendement.

La première approche a été réalisée en comparant les formulations  $UT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  d'un côté et  $CT_2S_2$  de l'autre. Nous avons également utilisé les composts commerciaux "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" comme formulation initiale. Pour étudier la deuxième approche, nous avons amendé ces composts commerciaux à 15% au lieu de 33%. Ces essais, de même que l'effet de ces modifications sur la NHF sont présentés en détail aux sections 3.5.1 à 3.5.3.

L'intérêt principal de ces expériences était le suivi de la NHF et, plus particulièrement, la comparaison des pics de NHF atteints par les composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$ ,  $C_2T_9S_9$ , "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix". Pour faire de telles comparaisons et études statistiques, une approche particulière a été utilisée pour définir un "pic" puisque le nombre limité de répétitions de dosages de NHF par jour par compost a rendu impossible la confirmation de la distribution normale de ces points par rapport à la variation intrinsèque au dosage de la NHF. Les critères utilisés pour définir la normalité d'une distribution de points nous portent à croire cependant que le phénomène que nous étudions répond aux exigences de la distribution normale:

"Un phénomène ou une variable aléatoire obéit approximativement à une loi normale quand quatre conditions sont rencontrées:

- 1- Le phénomène dépend de nombreux facteurs.
- 2- Ces facteurs sont indépendants entre eux.

3- Les effets aléatoires de ces facteurs sont cumulatifs.

4- Les variations de ces facteurs sont faibles et la variation du phénomène due à la variation de chacun des facteurs est également faible (Scherrer, 1984)."

Prenant pour acquis la distribution normale de ces points, j'ai défini un pic comme étant la valeur absolue maximale observée au cours du compostage suite à l'amendement répondant au critère suivant: la différence entre sa valeur et celle du point précédent et du point suivant doit excéder 1,96 fois la variation intrinsèque sigma ( $\sigma=5,25\mu\text{g NAG/g de MS}$ , section 2.3.3) du dosage de la NHF. Ce critère provient du fait qu'avec une distribution normale, 95% des points sont situés dans un intervalle de  $\pm 1,96\sigma$  par rapport à la moyenne. Une telle définition restrictive d'un pic nous permet d'être assurés à 95% que ce qui est observé est véritablement un pic et d'assurer la rigueur des statistiques basées sur ces données.

### **3.5.1 Influence de la présence ou de l'absence de résidus de crevettes dans la formulation initiale sur la valeur des pics de NHF:**

Les formulations des composts  $UT_2S_2$  et  $CT_2S_2$  sont identiques sauf que les résidus de crevettes présents comme intrant au début du compostage dans la formulation  $CT_2S_2$  ont été remplacés dans la formulation  $UT_2S_2$  par une autre source d'azote; l'urée. La quantité d'urée ajoutée a été calculée pour équivaloir aux résidus de crevettes en terme de quantité d'azote apportée au compost. Cette expérience nous a permis de déterminer s'il était nécessaire au compost d'avoir été exposé aux résidus de crevettes en début de compostage pour pouvoir mûrir rapidement et dégrader les résidus de crevettes ajoutées lors de l'amendement subséquent de manière à produire une haute NHF. Pour répondre à cette question, nous avons comparé les pics de NHF pour les composts  $UT_2S_2$  et  $CT_2S_2$ . Le tableau 4 montre les valeurs des pics de NHF de tous les réplicats de ces deux types de compost.

## TABLEAU 4

Pics\* de NHF - composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> amendés de résidus de crevettes à 33%  
poids sec - poids sec

Compost	Réplicata	Pic de NHF (µg NAG/g MS)
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	A	72,3
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	B	83,4
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	C	71,6
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	D	47,9
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	E	106,8
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	A	51,8
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	B	38,1
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	C	39,2 <sup>x</sup>
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	D	48,7
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	E	47,0

\* - Tel que défini à la section 3.5.

X - La valeur maximale observée ne répond pas aux critères énoncés à la section 3.5.

À partir de ces résultats, une analyse de Student bilatérale avec un intervalle de confiance de 95% nous permet de comparer les deux traitements. Le test de Student nous donne une valeur de 2,69 ce qui est supérieur à 2,37 trouvé dans une table de distribution de Student (Scherrer, 1984). C'est donc dire qu'à un intervalle de confiance de 95%, la variation entre les deux traitements est supérieure à celle pouvant être observée dans une distribution normale aléatoire. En d'autres termes, il est confirmé à 95% que les valeurs des pics de NHF atteintes

sont plus élevées lorsque la formulation initiale du compost contient de l'urée au lieu de résidus de crevettes.

### **3.5.2 Utilisation de composts commerciaux comme intrants:**

Les résultats présentés au tableau 4 nous ont démontré qu'il est possible et même préférable, en ce qui concerne la valeur optimale de NHF atteinte, que la formulation initiale des composts soit exempte de résidus de crevettes. Ceci nous a amené à considérer l'utilisation de composts commerciaux (déjà stabilisés) comme formulation initiale. Cette possibilité offre également l'avantage de réduire le temps de compostage puisque le procédé commence à la phase d'amendement en résidus de crevettes. Nous avons exploré cette possibilité avec les trois composts commerciaux suivants: "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix". Le tableau 5.1 montre la valeur de pics de NHF atteints par les composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$ ,  $C_2T_9S_9$ , "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix". Les répliquats des composts commerciaux amendés représentés dans le tableau 5.1 sont ceux ayant été amendés à 33% poids sec - poids sec pour permettre leur comparaison directe avec les composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  amendés à 33% poids sec - poids sec. À partir de ces résultats, diverses analyses de Student bilatérales, telles que celles présentées à la section précédente, nous révèlent les résultats présentés au tableau 5.2.



**TABLEAU 5.1**

**Pics\* de NHF - composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub>, "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" amendés de résidus de crevettes à 33% poids sec - poids sec.**

Compost	Réplicata	Pic de NHF (µg NAG/g MS)
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	A	72,3
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	B	83,4
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	C	71,6
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	D	47,9
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	E	106,8
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	A	51,8
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	B	38,1
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	C	39,2 <sup>x</sup>
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	D	48,7
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	E	47,0
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	A	56,9
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	B	31,9 <sup>x</sup>
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	C	23,7 <sup>x</sup>
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	D	103,3
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub>	E	42,3
"Aquaterre"	A	114,3
"Aquaterre"	B	126,0
"Écotech"	A	118,2
"Écotech"	B	58,6
"Botanix"	A	80,1
"Botanix"	B	76,4

\* - Tel que défini à la section 3.5.

X - La valeur maximale observée ne répond pas aux critères énoncés à la section 3.5.

## TABLEAU 5.2

**Analyses de Student bilatérales portant sur les pics de NHF des composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$ ,  $C_2T_9S_9$ , "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" amendés à 33%.**

Formulations	$UT_2S_2$	$CT_2S_2$	$C_2T_9S_9$	[U-C-9]	[C-9]
Aquaterre	>	>	=		
Écotech	=	=	=		
Botanix	=	>	=		
[A-É-B]	=			>	>
[A-É]	=				=

[U-C-9] : le groupe de composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$

[C-9] : le groupe de composts  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$

[A-É-B] : le groupe de composts Aquaterre, Écotech et Botanix

[A-É] : le groupe de composts Aquaterre et Écotech

- > : la formulation de cette ligne a atteint une NHF significativement supérieure à la formulation de cette colonne
- < : la formulation de cette ligne a atteint une NHF significativement inférieure à la formulation de cette colonne
- = : les NHF atteintes par ces formulations ne diffèrent pas significativement

Certains résultats sont contradictoires dû au nombre limité de réplicatas mais les conclusions suivantes sont maintenues:

1- Avec un amendement de 33%, les composts commerciaux ont atteint des NHF significativement similaires ou supérieures à celles obtenues avec les composts composés de biomasses primaires.

2- Avec tous les résultats amalgamés, il semble que les composts commerciaux aient une meilleure performance en terme de NHF que les composts composés de biomasses primaires. De plus, il semble aussi que le mélange  $UT_2S_2$  ait une performance similaire aux composts commerciaux.

3- Le nombre de réplicatas est insuffisant pour pouvoir déterminer de façon statistique quel mélange est le meilleur mais dans le cas des composts composés de biomasses primaires,  $UT_2S_2$  a eu une performance égale ou supérieure à  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  et chaque compost commercial a eu une performance égale ou supérieure à chacun des composts composés de biomasses primaires. Ceci implique qu'un compost n'ayant pas de résidus de crevettes dans son mélange initial ( $UT_2S_2$ ) et un compost mature ("Aquaterre", "Écotech" ou "Botanix") auront une performance supérieure ou égale à celle d'un compost ayant déjà été exposé à ces résidus. Par conséquent et pour optimiser l'utilisation de la biomasse chitineuse, il est préférable d'utiliser de telles formulations pour l'application que nous envisageons.

### **3.5.3 Amendements en cours de compostage:**

Les résultats présentés aux sections 3.5.1. et 3.5.2 démontrent clairement la possibilité et l'avantage (en termes de NHF atteintes) d'éliminer l'utilisation de résidus de crevettes dans la formulation initiale des composts lorsqu'un amendement de 33% poids sec - poids sec en résidus de crevettes est effectué en cours de compostage pour un compost non-stabilisé ( $UT_2S_2$ ). En outre, ils montrent la possibilité d'enrichir des composts commerciaux en facteurs phytoprotecteurs (représentés par la NHF) en procédant en un amendement en chitine suivi d'un compostage de 2 à 3 semaines.

Les résultats présentés au tableau 6 ont été analysés pour déterminer si la valeur des pics de NHF atteints est similaire lorsqu'un compost commercial est amendé à 15% et à 33%.

## TABLEAU 6

**Pics\* de NHF - composts "Aquaterre", "Écotech" et "Botanix" amendés de résidus  
de crevettes à 15% ou 33% poids sec - poids sec.**

Compost	Réplicata	Pic de NHF (µg NAG/g MS)
"Aquaterre"	A (15%)	49,5
"Aquaterre"	B (15%)	88,9
"Aquaterre"	C (33%)	114,3
"Aquaterre"	D (33%)	126,0
"Écotech"	A (15%)	78,9
"Écotech"	B (15%)	103,2
"Écotech"	C (33%)	58,6
"Écotech"	D (33%)	118,2
"Botanix"	A (15%)	69,1
"Botanix"	B (15%)	81,1
"Botanix"	C (33%)	80,1
"Botanix"	D (33%)	76,4

\* - Tel que défini à la section 3.5.

Pour l'analyse statistique de ces résultats, une autre approche a été utilisée pour tenir en ligne de compte les deux facteurs en cause: le type de compost commercial utilisé et le type d'amendement effectué. Une analyse ANOVA à deux facteurs nous a révélé les résultats suivants:

- 1- Il n'y a pas de différence significative entre les valeurs de NHF atteintes par les trois composts.
- 2- Les NHF atteintes par l'ensemble des composts commerciaux amendés à 33% sont significativement supérieures à celles atteintes par l'ensemble des composts commerciaux amendés à 15%. Il y a 1,24% de probabilité que cette observation provienne du hasard.
- 3- Pour un compost commercial donné, il y a 15,6% de probabilité que la hausse en NHF atteinte lorsqu'on augmente le degré d'amendement (de 15% et 33%) provienne du hasard.

### **3.6 Méthode simplifiée pour le suivi du procédé de compostage:**

Les résultats précédents traitent des pics de NHF atteints en cours de compostage. À la lumière des graphiques présentés aux sections 3.3 et 3.4, nous voyons que la NHF apparaît suite à l'amendement en résidus de crevettes puis disparaît au cours du temps. De manière à assurer une certaine teneur en oligomères de chitine dans le produit final de compostage pour qu'il ait le potentiel d'être phytoprotecteur ou fongistatique, le processus de compostage devra être arrêté au moment opportun; lorsque la NHF est à son maximum.

Étant donné que le dosage de la NHF est une technique fastidieuse et nécessitant de l'équipement spécialisé (spectrophotomètre) et des réactifs très coûteux (enzyme NAGase), nous avons vérifié la possibilité d'utiliser une autre méthode pour déterminer le moment approprié pour arrêter le compostage. Nous avons trouvé une relation entre le moment où le pic de NHF est atteint et le moment où le creux de teneur en ammonium survient pour les

composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$ . Les figures 2.1, 2.2 et 2.3 montrent que la teneur en ammonium connaît une chute importante lorsque la NHF augmente. Le critère pour valider le moment où survient le creux en ammonium est analogue à celui utilisé pour valider les pics de NHF: la différence entre la valeur minimale en ammonium observée en cours de compostage et celle du point précédent doit excéder 1,96 fois la variation intrinsèque au dosage de l'ammonium ( $\sigma = 0,828 \text{ mg NH}_3/\text{g MS}$ ). Une méthode alternative de suivi du compostage repose donc sur la teneur en ammonium. Cette observation s'applique aux composts à base d'intrants bruts et non aux composts commerciaux amendés puisque la variation de leur teneur en ammonium (figures 3.1 à 3.6) ne rencontre pas le critère énoncé plus haut. Le tableau 7 démontre que le compostage des formulations  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  pourrait être arrêté après une chute de teneur en ammonium de 85% à 95%. Il s'ensuit que de tels composts devraient être suivis de façon quotidienne après l'amendement en résidus de crevettes.

## TABLEAU 7

**Arrêt du compostage selon une méthode simplifiée - composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub>, amendés de résidus de crevettes à 33% poids sec - poids sec.**

Compost	Teneur en NH <sub>3</sub> avant l'arrêt		Teneur en NH <sub>3</sub> au moment de l'arrêt		Chute NH <sub>3</sub> %	NHF à l'arrêt Valeur <sup>o</sup>	Pic de NHF	
	Valeur*	Jour	Valeur*	Jour			Valeur <sup>o</sup>	Jour
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> A	5,28	5	0,677	12	87,2	72,3	72,3	12
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> B	4,92	5	0,492	12	90,0	83,4	83,4	12
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> C	4,92	5	0,384	12	92,2	71,6	71,6	12
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> D	4,27	5	0,333	12	92,2	19,7	47,9	5
UT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> E	4,42	5	0,289	12	93,5	79,8	106,8	5
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> A	3,22	5	0,133	12	95,9	51,8	51,8	12
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> B	3,22	5	0,133	12	95,9	38,0	38,0	12
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> C	3,10	5	0,133	12	95,7	29,1	39,2 <sup>x</sup>	-2
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> D	3,22	5	0,133	12	95,9	48,7	48,7	12
CT <sub>2</sub> S <sub>2</sub> E	3,33	5	1,38 <sup>y</sup>	12	58,7	47,0	47,0	12
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> A	2,51	5	0,115	12	95,4	56,9	56,9	12
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> B	2,69	5	0,104	12	96,2	31,9	31,9 <sup>x</sup>	12
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> C	2,89	5	0,112	12	96,1	23,7	23,7 <sup>x</sup>	12
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> D	2,89	5	0,093	12	96,8	37,0	103,3	5
C <sub>2</sub> T <sub>9</sub> S <sub>9</sub> E	3,00	5	0,093	12	96,9	42,3	42,3	12

\* En mg NH<sub>3</sub>/g MS

<sup>o</sup> En µg NAG/g MS

X - La valeur maximale observée ne répond pas aux critères énoncés à la section 3.5.

Y - La valeur minimale observée ne répond pas aux critères énoncés à la section 3.6.

En comparant les deux dernières colonnes du tableau 7, on voit qu'une telle méthode de détermination du moment d'arrêter le compostage ne permettrait pas l'arrêt du compostage au moment exact de l'atteinte du pic de la NHF. Cependant, tous les composts auraient eu une NHF de l'ordre de grandeur des dizaines de  $\mu\text{g NAG/g MS}$ , ce qui constitue un niveau très satisfaisant (sections 1.2.1 et 1.4). De ces 15 essais, 14 composts ont eu un creux en ammonium acceptable pour cette méthode de détermination du moment d'arrêter le compostage. Les statistiques suivantes sont basées exclusivement sur ce fait et expriment la probabilité que le lien observé entre les chutes en ammonium et les NHF "à l'arrêt" provienne du hasard.

$$(3.1) \quad \text{Analyse binomiale: } P(x) = \frac{n!}{(n-x)! (x!)} (q^{n-x}) (p^x)$$

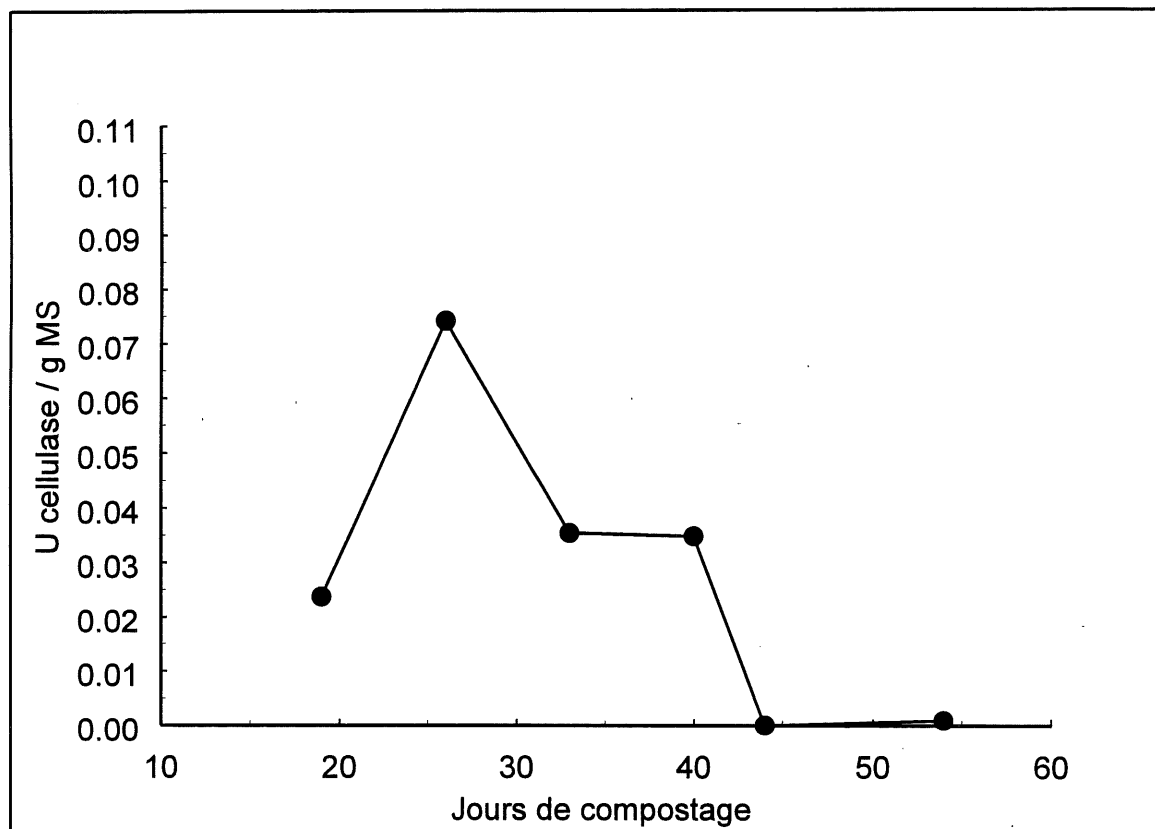
Où n est le nombre de réplicatas (15), x est le nombre d'évènements rares (1), p et q représentent la distribution théorique dont on étudie la probabilité (50%, 50%) et p(x) exprime la probabilité que notre observation (14 versus 1) provienne du hasard.

$$(3.2) \quad \text{Dans notre cas, } P(x) = \frac{15!}{(15-1)! (1!)} (0,5^{15-1}) (1 - 0,5)^1 = 0,00046 = 0,046\%$$

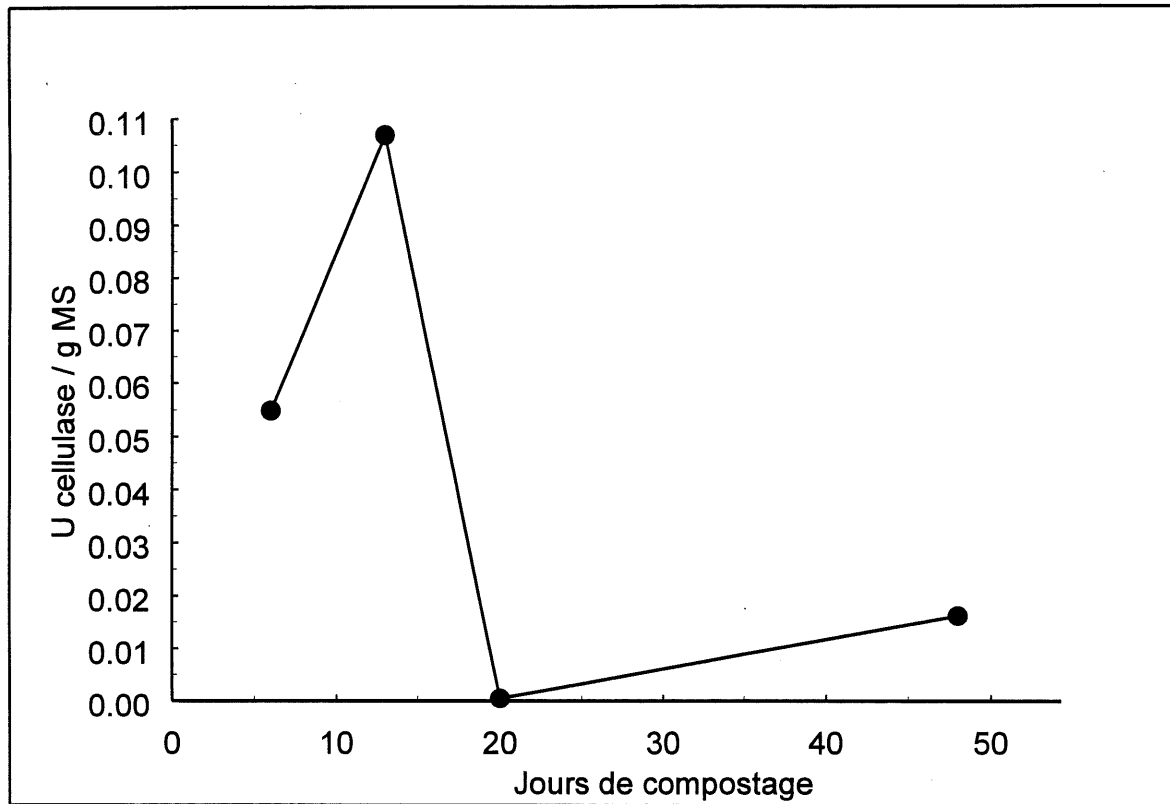
### **3.7 Tendance générale de l'activité cellulolytique en cours de compostage:**

L'activité cellulolytique mesurée en cours de compostage variait d'un type de compost à l'autre. Les niveaux d'activité enzymatique se situaient entre 0 et 0,1 U/ g MS. En termes relatifs, l'activité observée est de l'ordre de celle d'une centaine de  $\mu\text{g}$  de cellulase commerciale; ce qui est appréciable. Les figures 4.1 et 4.2 illustrent le comportement de ces composts au cours du temps. En général, on voit que l'activité cellulolytique diminue au cours du compostage. D'après ces figures, on constate également que l'ajout de résidus de crevettes aux jours 21 et 6, respectivement, ravive cette activité.





**Figure 4.1: Tendance générale de l'activité cellulolytique en cours de compostage - composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> amendés à 33% (réplicata D).**

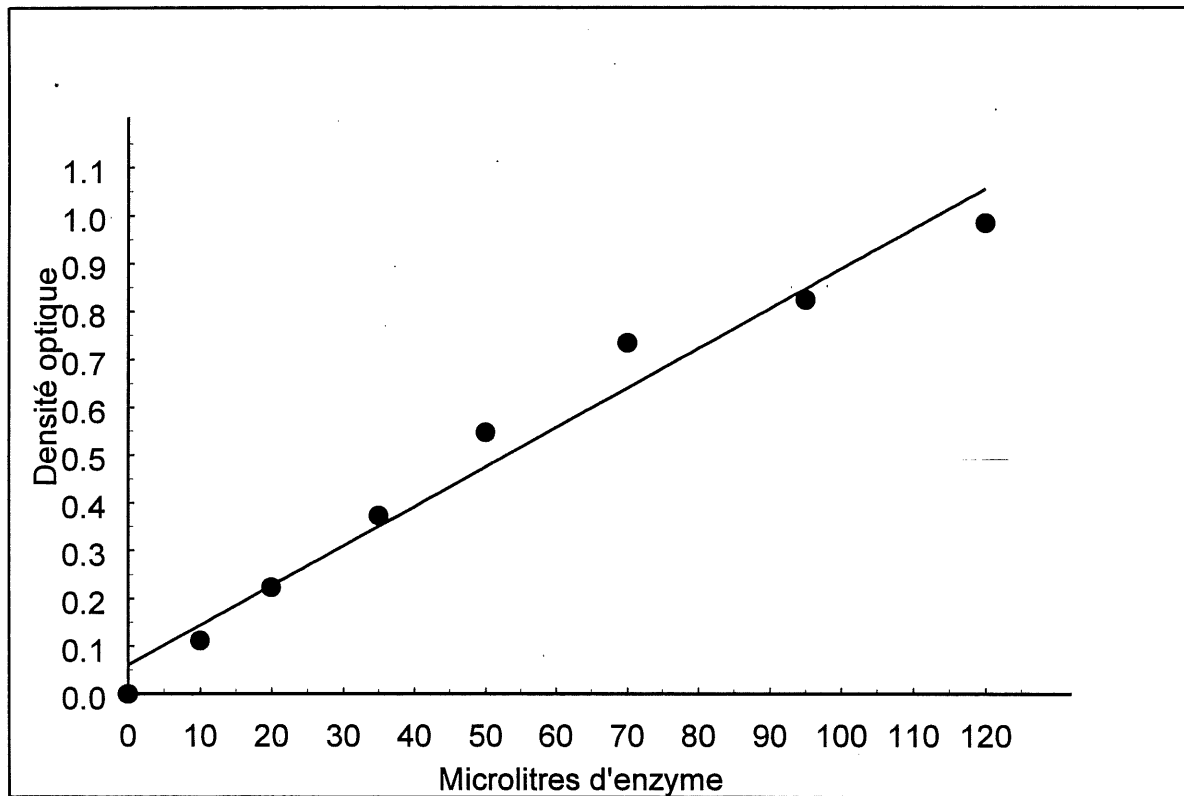


**Figure 4.2: Tendence générale de l'activité cellulolytique en cours de compostage - composts "Aquaterre" amendés à 15% (réplicata A).**

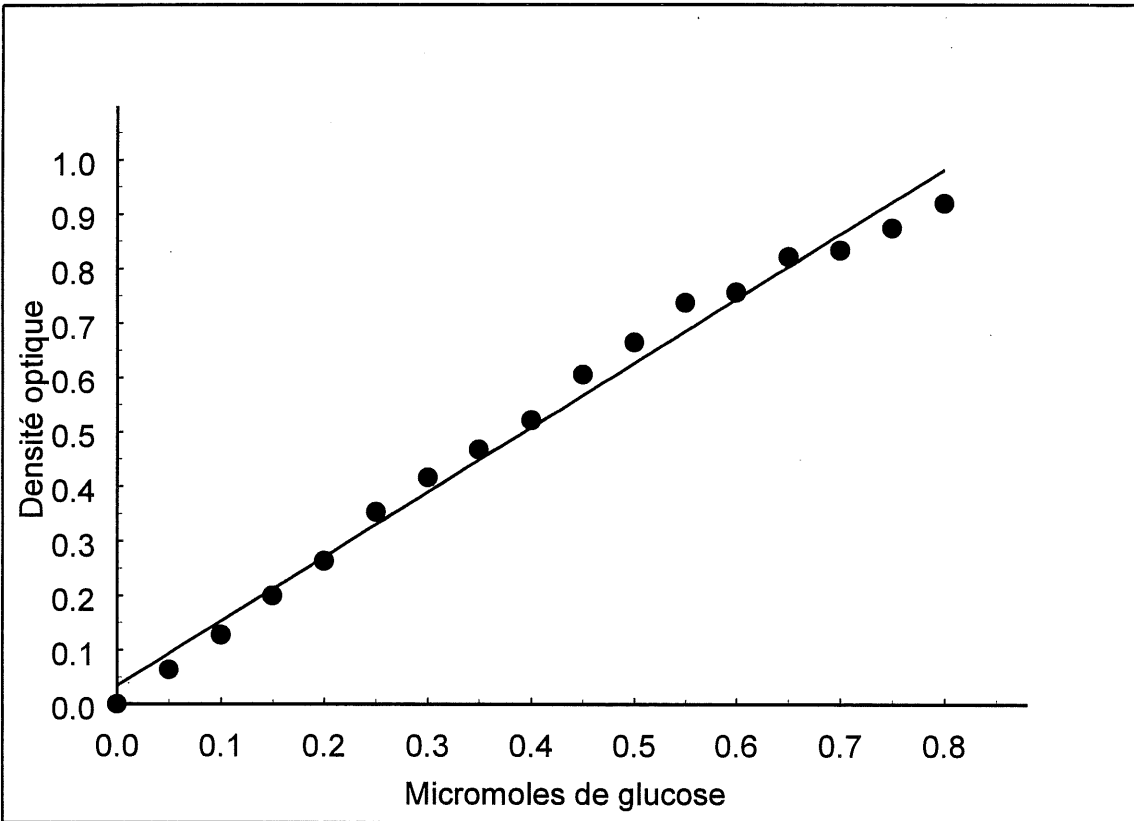
### **3.7.1 Conversion des unités de DO d'activité cellulolytique en unités internationales d'activité enzymatique:**

Cette conversion s'est faite en trois étapes principales représentées par trois graphiques. Le but de ces manipulations était de déterminer la valeur d'équivalence entre l'activité cellulolytique mesurée par la DO à 550nm et celle mesurée en U (dosage de sucres réducteurs).

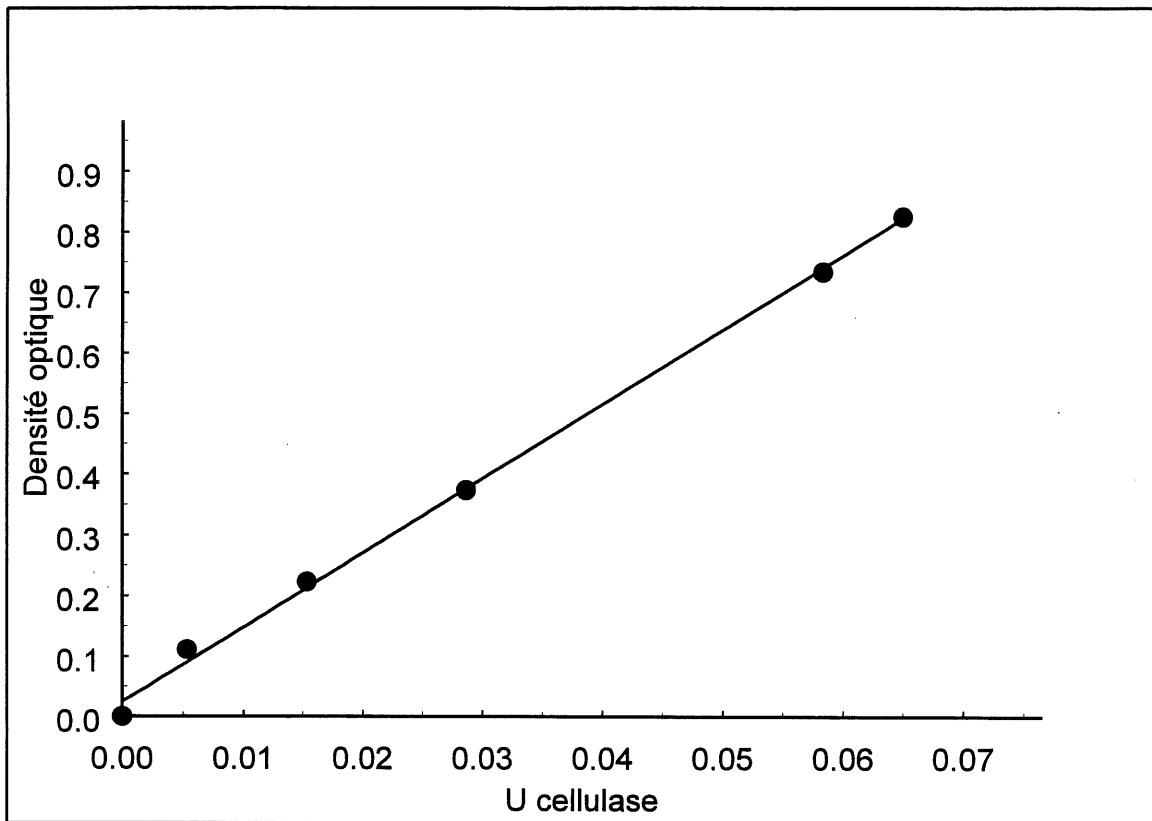
Nous avons d'abord fait deux séries de tubes contenant tous la même quantité d'OBR dans une série et tous la même quantité de CMC dans l'autre. Ces deux séries contenaient des quantités d'une solution de cellulase commerciale variant entre 0 et 120  $\mu$ l. La concentration de l'enzyme active n'était pas connue précisément alors une expérience précédant celle décrite ici nous a permis de déterminer quelles quantités de cette solution enzymatique seraient nécessaires pour établir une courbe de dégradation des substrats linéaire. Les tubes contenant les substrats et l'enzyme ont été incubés 45min avec agitation à 37°C. La réaction a été arrêtée avec 9ml d'éthanol-acétone. Ensuite, les tubes ont été centrifugés pendant 5min à 3800rpm. Les DO de ces surnageants ont été mesurés à 550nm pour les tubes contenant l'OBR et le graphique DO 550nm vs quantité d'enzyme a été dressé (figure 5.1). Pour les tubes contenant le CMC, nous avons dosé la quantité de glucose libérée lors de la réaction à l'aide du dosage des sucres réducteurs de Nelson-Somogyi (Spiro, 1966). À partir de la courbe standard du dosage Nelson-Somogyi (DO 520nm en fonction de la quantité de glucose libérée, figure 5.2), nous avons pu déterminer l'activité enzymatique (U) présente dans chaque tube puisqu'une U d'activité enzymatique équivaut à une micromole de glucose libérée par minute de réaction. Ces deux manipulations nous ont permis de dresser un graphique DO 550nm vs unités internationales (figure 5.3), nous permettant ainsi de convertir tous nos résultats d'activité cellulolytique en U d'activité enzymatique. Des résultats très similaires pour la conversion de l'activité cellulolytique en U d'activité enzymatique ont été obtenus par Biely *et al.* (1985).



**Figure 5.1: DO à 550nm en fonction de la quantité d'enzyme pour les tubes contenant le substrat OBR.**



**Figure 5.2: Courbe standard du dosage de sucres réducteurs par la méthode Nelson-Somogyi (DO à 520nm en fonction de la quantité de glucose libérée).**



**Figure 5.3: Relation linéaire entre les unités internationales de cellulase et la densité optique mesurée avec le substrat OBR.**

### **3.8 Composts et produits commerciaux:**

Nous avons analysé quelques produits présentement sur le marché pour établir une base de comparaison avec les composts que nous avons produits. Les résultats de ces analyses sont présentés au tableau suivant. Notons qu'aucun de ces composts ne possédait une NHF ni une activité cellulolytique notable.

**TABLEAU 8**  
**Analyse de composts et produits commerciaux.**

Produit / analyse	C/N	pH	Conductivité (ms/cm)	Act. Cell (mU / g MS)	NHF (µg NAG / g MS)	CEC (mequ NaOH / 100g MS)	% Germination (cresson)
(1)	30,5	5,0	2,15	18,84	0	128,6	>85%
(2)	23,8	4,5	0,429	5,15	0	51,1	>85%
(3)	89,6	4,5	0,346	4,26	0	61,1	>85%
(4)	17,1	4,5	0,912	0	0	59,6	>85%
(5)	24,5	4,5	0,217	5,55	0	82,0	>85%
(6)	67,9	4,5	3,94	5,47	0	106,7	>85%
(7)	18,1	4,5	1,32	1,93	0	63,5	>85%

(1) Compost commercial "Aquaterre" à base de tourbe et de résidus de crevettes.

(2) Compost commercial "Fumier de mouton composté".

(3) Compost commercial "Fumier de bétail composté".

(4) Terreau commercial "Hillview - mother earth".

(5) Terreau commercial "Topsoil/Terreau".

(6) Terreau commercial "Planet Safe".

(7) Terreau commercial "Garden Treat".

>85% La germination du cresson était supérieure à 85% ; le pourcentage garanti par le distributeur.

Donc le produit ne semble pas être phytotoxique.

## CHAPITRE 4

### DISCUSSION

#### **4.1 Procédé de compostage choisi:**

Le compostage à petite échelle (4l) doit être fait dans un incubateur puisque le volume de compost est insuffisant pour emmagasiner la chaleur produite au point de faire augmenter la température du compost. Il faut donc, à petite échelle, imposer la phase thermophile à l'aide d'un incubateur. Ce genre d'essai à petite échelle est bien documenté et a déjà fait ses preuves. Par exemple, il peut servir à étudier de manière précise et peu coûteuse la conséquence de la variations des conditions de compostage sur le produit final (Suler et Finstein, 1977). Cette méthode a également été utilisée pour évaluer la chaleur produite lors du compostage des résidus ligneux et son effet sur la microflore (Campbell *et al.*, 1990).

Le compostage peut également produire certaines odeurs et par conséquent, représenter un problème sérieux. Dans notre cas, au début du projet, il a fallu adapter davantage l'appareillage. Cette adaptation fût d'ajouter un biofiltre au circuit d'évacuation de l'air vicié. L'appareillage a dû également être adapté pour capter les lixiviats produits par les formulations à base de boues d'épuration. Leur forte teneur en eau a été à la source du problème. Suite aux changements dans les formulations, les problèmes d'odeurs et de lixiviats sont rentrés dans l'ordre.

#### **4.2 Formulations:**

Plusieurs combinaisons d'intrants ont été considérées dans le cadre de ce projet et leur choix a été influencé par son caractère multidisciplinaire. Les critères de sélection des intrants utilisés dans les formulations sont présentés au tableau 9.



## TABLEAU 9

### Critères de sélection des intrants.

Critère	Raison principale
Disponibilité, constance d'approvisionnement.	Pour être fidèle aux conditions d'une mise à l'échelle industrielle.
Constance de qualité.	Pour pouvoir garantir la constance de qualité dans le produit final mis en marché.
Faible teneur en substances toxiques.	Pour éviter un effet néfaste envers les plantes.
Rapport C/N.	Pour équilibrer le C/N initial de la formulation autour de 40 pour favoriser le développement de la microflore.
Bonne capacité de rétention d'eau.	Pour tempérer la perte en eau du compost due à l'aération forcée.
Capacité de tamponnage du pH.	Pour atténuer les variations brusques de pH pouvant affecter la microflore.
Structure macroscopique.	Pour faciliter l'aération lors du compostage et de l'application au sol.
Teneur en eau modérée.	Pour éviter la compaction du compost et la production de lixiviats.
Coût modéré.	Pour minimiser les coûts potentiels de production à grande échelle.

Selon ces critères, les intrants choisis sont présentés au tableau 10.

## TABLEAU 10

### Description des intrants choisis.

Intrant	Description
Résidus de crevettes.	Source de chitine riche en azote, disponible en région maritime, apporte une certaine structure au début du compostage.
Tourbe brune.	Matière organique avec une énorme rétention d'eau et tamponnant le pH du compost. Disponible sans problème au Québec.
Sciures de feuillus et sciures de résineux.	Source très riche en carbone disponible presque partout. En quantité suffisante, les copeaux apportent une certaine structure au compost et au sol amendé en favorisant alors l'aération.
Feuilles mortes.	Disponibilité saisonnière. Qualité variable.
Boues résiduelles de l'épuration de l'eau.	Source riche en azote et contenant 50% d'eau ou plus. Elles contiennent souvent des métaux lourds et ont tendance à se compacter lors du compostage. Leur qualité est très variable, même provenant d'une même usine. Parfois elles peuvent être chaulées. Elles peuvent alors représenter un certain problème car elles ont un pH très haut et peu favorable à l'activité microbienne. Davantage disponibles en région urbaine.
Poudre d'os, poisson et varech moulus.	Source très riche en azote et disponible en région maritime sous la forme de résidus de transformation dans l'industrie de la pêche.
Urée.	Source d'azote artificielle. Forme granulaire.
Compost Aquaterre.	Compost commercial à base de tourbe et de résidus de crevettes.
Compost Écotech .	Compost commercial à base de tourbe et de résidus de crabes et de crevettes.
Compost commercial Botanix.	Compost commercial à base de fumier de mouton.

De manière générale, ces expériences ont confirmé la possibilité de travailler à petite échelle avec le compostage. De tous les intrants essayés, seules les boues résiduelles de l'épuration de l'eau ont été abandonnées puisque l'uniformité de leur qualité peut être difficilement garantie, ce qui risque d'avoir des répercussions sur le produit final du compostage. Il s'agit là simplement d'un facteur de variation pouvant être évité.

Nos essais ayant eu le plus de succès ont commencé avec les formulations  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$ . Les résultats présentés au tableau 5.1 montrent que les composts  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  ont eu une performance en NHF inférieure à celle des composts  $UT_2S_2$  et qu'il est possible et même préférable de substituer la source d'azote (dans ce cas-ci par l'urée) dans le mélange initial pour obtenir une haute NHF. Ces résultats démontrent également que les composts commerciaux amendés de résidus de crevettes atteignent une NHF plus élevée que les composts à base d'intrants brutes. L'explication de ce phénomène est complexe mais un des facteurs pouvant expliquer la différence observée dans la dynamique de la dégradation de la chitine est le fait que les composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  possédaient une microflore spécialisée dans la dégradation de la chitine avant l'amendement puisque cette même microflore, principalement composée d'actinomycètes, est également spécialisée dans la dégradation de la cellulose provenant des sciures. Par conséquent, la dégradation de la chitine commence immédiatement après l'amendement dans les composts  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$  et les populations microbiennes responsables de sa dégradation prolifèrent davantage, assurant ainsi une dégradation efficace de la chitine.

L'accumulation optimale des oligomères de chitine, une forme transitoire accumulée de la chitine en voie de dégradation et mesurée par la NHF, est donc moindre que celle observée dans les composts commerciaux amendés de résidus de crevettes et requiert 12 jours suite à l'amendement avant de se manifester. Par contre, la microflore des composts commerciaux, n'étant pas aussi riche ni adaptée à la dégradation de la chitine avant l'amendement, doit

s'adapter pour dégrader la chitine. Cette période d'adaptation et de dégradation inégale de la chitine est caractérisée par une accumulation rapide d'oligomères de chitine et la NHF optimale de ces composts est observée seulement 7 jours après l'amendement. Cette constatation nous a ouvert une voie pour l'optimisation de l'utilisation de la biomasse chitineuse.

#### **4.3 Utilisation optimale de la biomasse chitineuse:**

La demande croissante pour les résidus de crevettes et autres biomasses chitineuses a exigé de notre projet l'optimisation de son utilisation. Certaines industries, notamment celles de l'alimentation, de l'environnement et des cosmétiques trouvent régulièrement de nouvelles applications pour cette ressource. Nous avons donc étudié la possibilité de produire un compost possédant une haute NHF en réduisant l'apport de biomasse chitineuse nécessaire à l'obtention d'une haute NHF.

Cette optimisation s'est faite en trois étapes principales. Premièrement, tel que mentionné précédemment, le suivi de la formulation  $UT_2S_2$  nous a démontré qu'il est préférable, en ce qui concerne les NHF atteintes, d'utiliser une formulation initiale exempte de résidus de crevettes. Suite à ces observations, nous avons envisagé l'utilisation de composts commerciaux comme formulation initiale et ensuite de les amender. Lors des essais avec les composts commerciaux, nous avons essayé deux degrés d'amendement: 15% et 33%.

Ces essais nous ont permis de constater que l'utilisation de composts matures comme formulation initiale est préférable aux formulations à base d'intrants bruts et qu'un amendement à 15% engendre une NHF adéquate (sections 1.2.1 et 1.4). De plus, cette approche réduit le temps de compostage et pourrait s'avérer une option intéressante pour les producteurs actuels de compost.

#### **4.4 Méthode simplifiée de suivi proposée:**

Les figures 2.1 à 2.3 montrent l'évolution de la conductivité, NHF et teneur en ammonium au cours du compostage des formulations  $UT_2S_2$ ,  $CT_2S_2$  et  $C_2T_9S_9$ . Elles montrent un patron où la chute en ammonium coïncide avec la hausse de la NHF. Avec les résultats du tableau 7, il est clair que la teneur en ammonium pourrait servir à déterminer le moment opportun d'arrêter le compostage puisque les NHF atteintes au moment d'arrêt seraient de l'ordre des dizaines de  $\mu\text{g NAG} / \text{gramme de MS de compost}$ . Cette méthode de détermination reposerait sur une chute décisive de la teneur en ammonium (85% à 95%) et serait de loin préférable au suivi de la NHF puisque la première serait beaucoup plus adaptée aux conditions d'analyse sur le terrain. Le dosage de l'ammonium, présenté à la section 2.3.2, est une méthode simple et requérant peu de matériel spécialisé. Au contraire, le suivi de la NHF est plus fastidieux et requiert des réactifs et de l'équipement plus dispendieux. Une analyse binômiale révèle que la probabilité que le lien trouvé entre la chute de la teneur en ammonium et une NHF terminale acceptable provienne du hasard n'est que de 0,046%.

Les figures 3.1 à 3.6 montrent l'évolution de la conductivité, NHF et teneur en ammonium au cours du compostage des composts commerciaux Aquaterre, Écotech et Botanix amendés à 15% et 33%. Les composts semblent démontrer une même tendance mais les niveaux de teneur en ammonium atteints avec ces composts sont de trois à six fois inférieurs à ceux des composts à base d'intrants bruts. Il semble que les composts commerciaux, puisqu'ils sont complètement matures avant l'amendement, ne possèdent pas d'azote en excès et l'azote qu'on leur ajoute sous forme de résidus de crevettes s'immobilise presque totalement dans la microflore. L'azote dans la forme transitoire d'ammonium est très peu présente. L'évolution de la teneur en ammonium ne pourrait donc pas être utilisée pour remplacer le suivi de la NHF dans le but de déterminer le moment d'arrêt du compostage pour les composts matures amendés.

#### **4.5 Évaluation des composts produits:**

Tout au cours des essais de compostage, nous avons dû adapter la méthodologie pour adresser de nouvelles interrogations. Cependant, un facteur demeurait constant; il fallait que le compost produit soit un amendement fertilisant pour le sol et bénéfique à la croissance des plantes. L'évaluation de la qualité d'un compost est une question complexe étant donné les besoins particuliers des sols et des plantes en plus de l'éventail des méthodes d'utilisation des composts. La Norme Nationale du Canada concernant les amendements organiques vient à peine d'être publiée (1996) et elle stipule qu'un compost mature doit avoir un rapport C/N inférieur ou égal à 25 "puisque en général, la décomposition d'un compost ayant un rapport C/N inférieur ou égal à 25 dans un sol n'entraîne pas l'immobilisation de l'azote du sol au détriment des végétaux". En ce qui concerne les composts que nous avons produits, leur rapport C/N se situait entre 15 et 30 à la fin du compostage (résultats non-présentés). Ces résultats sont donc tout à fait acceptables.

Plusieurs auteurs dont Harada et Inoko (1980) citent qu'un compost ayant une CEC égale ou supérieure à 60 mequ NaOH / 100g MS est mature. Tous les composts produits dans nos essais ont excédé ce critère (résultats non-présentés). La majorité d'entre-eux ont atteint, à la fin du compostage, une CEC située entre 85 et 120 mequ NaOH / 100g MS. Il est à noter que la présence de tourbe (CEC = 160 mequ NaOH / 100g MS) peut expliquer en grande partie ces résultats.

Le test de germination des graines de cresson alénois (*Lepidium sativum*) est l'essai nous ayant permis d'évaluer la phytotoxicité des composts que nous avons produits; phytotoxicité principalement due, tel qu'expliqué précédemment, à la présence excessive d'acides organiques dans les composts immatures (Mustin, 1987). La Norme Nationale du Canada concernant les amendements organiques (1996) stipule que le taux de germination des graines

de cresson pour un compost analysé "doit être supérieur à une valeur correspondant à 90% du taux de germination de l'échantillon témoin". Dans notre cas, les taux de germination des graines de cresson pour les composts analysés à la fin du compostage ont toujours été supérieurs à 85%, pourcentage de germination garanti par le distributeur (résultats non-présentés). Les taux de germination des échantillons témoins se situaient entre 95% et 100%. Les composts que nous avons produits ne démontraient pas de problèmes de phytotoxicité.

#### **4.6 Classification générale des composts produits:**

La Norme Nationale du Canada concernant les amendements organiques (1996) classe en ordre décroissant de qualité les composts en trois types: AA, A et B. Les trois éléments jugés par cette classification sont: la teneur en matière organique totale, en corps étrangers et en éléments traces. Le procédé de compostage que nous avons utilisé nous garanti que la teneur en agents pathogènes n'excède pas les limites énoncés dans la Norme Nationale du Canada concernant les amendements organiques puisqu'une température de compostage de 55°C à 60°C pendant un jour ou deux est suffisant pour tuer l'ensemble des virus, bactéries et protozoaires pathogènes de même que les organismes pathogènes entériques (Haug, 1993). De plus, les intrants que nous avons utilisés dans ces expériences sont favorables à la production d'un compost rencontrant les normes AA de matière organique totale, corps étrangers et d'éléments traces et plusieurs analyses que nous avons effectuées nous confirme ceci pour plusieurs autres paramètres. Cependant, une analyse complémentaire serait nécessaire pour nous en assurer. En conclusion, à la lumière des normes citées, de la composition des composts UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> et des composts commerciaux Aquaterre, Écotech et Botanix amendés de même que les analyses effectuées sur ces derniers, tout nous porte à croire que ces composts seraient classés AA suite à une analyse complète.

#### **4.7 La revalorisation de la biomasse chitineuse:**

La revalorisation de la biomasse chitineuse est un très bel exemple de gestion des déchets par l'homme. En effet, le déchet problématique qu'était les carapaces de crustacés est maintenant devenu une ressource très intéressante à être exploitée à plusieurs niveaux. Sa disponibilité est incontestable puisque les exosquelettes et autres parties rejetées lors de la transformation alimentaire des crustacés tels que le homard, le crabe et la crevettes constituent 30% à 80% de leur poids total. Le compostage de ces résidus en présence de tourbe est étudié au Canada depuis plus d'une décennie. Outre la disponibilité, ces résidus génèrent de l'intérêt par leur richesse en calcium et en phosphore, ce qui les rendent particulièrement intéressants en tant qu'engrais. La tourbe, lorsque disponible, est presque toujours choisie pour faciliter le compostage des résidus chitineux et autres résidus de la pêche pour ses diverses propriétés dont le contrôle des odeurs, sa forte capacité de rétention d'eau et son rapport C/N élevé (Mathur *et al.*, 1988).

Mis à part le compostage, la chitine et le chitosane ont déjà certaines applications en agriculture. Des essais d'enrobage de semences de céréales avec une solution de chitosane sont réalisés depuis plusieurs années déjà. Les résultats sont encourageants puisqu'une protection des graines face aux champignons phytopathogènes du sol a été prouvée. Dans quelques parcelles de terrains où les attaques fongiques étaient particulièrement fréquentes, les rendements de récolte ont été améliorés de plus de 20% en pratiquant l'enrobage des semences avec une solution de chitosane (Seng, 1987). D'autres études similaires effectuées par d'autres chercheurs sur différentes céréales ont obtenu les mêmes résultats (Pennisi, 1993).

Ce recyclage des déchets chitineux a un marché potentiel assez impressionnant. Selon une analyse de marché potentiel au États-unis, les profits seraient de 335 millions de dollars par



année dont 54 millions en agriculture, 50 millions en cosmétiques et 190 millions au niveau de la santé (Seng, 1987). Au 21<sup>ème</sup> siècle, le marché industriel de la chitine et du chitosane pourrait être de l'ordre du milliard de dollars mais ceci est difficile à évaluer car les domaines les plus lucratifs sont encore au stade de la recherche en laboratoire (Pennisi, 1993).

## CONCLUSION

Les travaux réalisés ont défini une technique de compostage de résidus chitineux pouvant être appliquée à une formulation à base d'intrants bruts ou de composts matures amendés. Ces expériences ont aussi permis de confirmer la validité d'essais à petite échelle (4l) à température imposée et aération forcée en plus de développer une méthode sensible permettant le dosage spécifique des oligomères de chitine dans le compost; le dosage de la NHF. Nous avons également trouvé que le suivi de ce paramètre, pour les composts à base d'intrants bruts, peut être remplacé par une méthode plus simple; le dosage de la teneur en ammonium pour déterminer le moment d'arrêt du compostage. Une approche différente devra être développée pour ce faire avec les composts commerciaux amendés de résidus de crevettes.

La formulation des compost a été optimisée à un point tel qu'il y avait absence de lixiviats et un dégagement d'odeur négligeable. Les meilleurs composts ont donc été UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub>, CT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et C<sub>2</sub>T<sub>9</sub>S<sub>9</sub> et les composts Aquaterre, Écotech et Botanix amendés de résidus de crevettes. Suite à l'optimisation de l'utilisation de la biomasse chitineuse, les formulations de choix ont été: UT<sub>2</sub>S<sub>2</sub> et les composts commerciaux amendés à 15%.

Les composts produits ont été d'excellente qualité selon les critères énoncés dans la Norme Nationale du Canada concernant les amendements organiques (1996). Les composts produits possédaient de la chitine sous forme oligomérique en quantité suggérant qu'ils pourraient posséder des propriétés phytoprotectrices (sections 1.2.1 et 1.4).

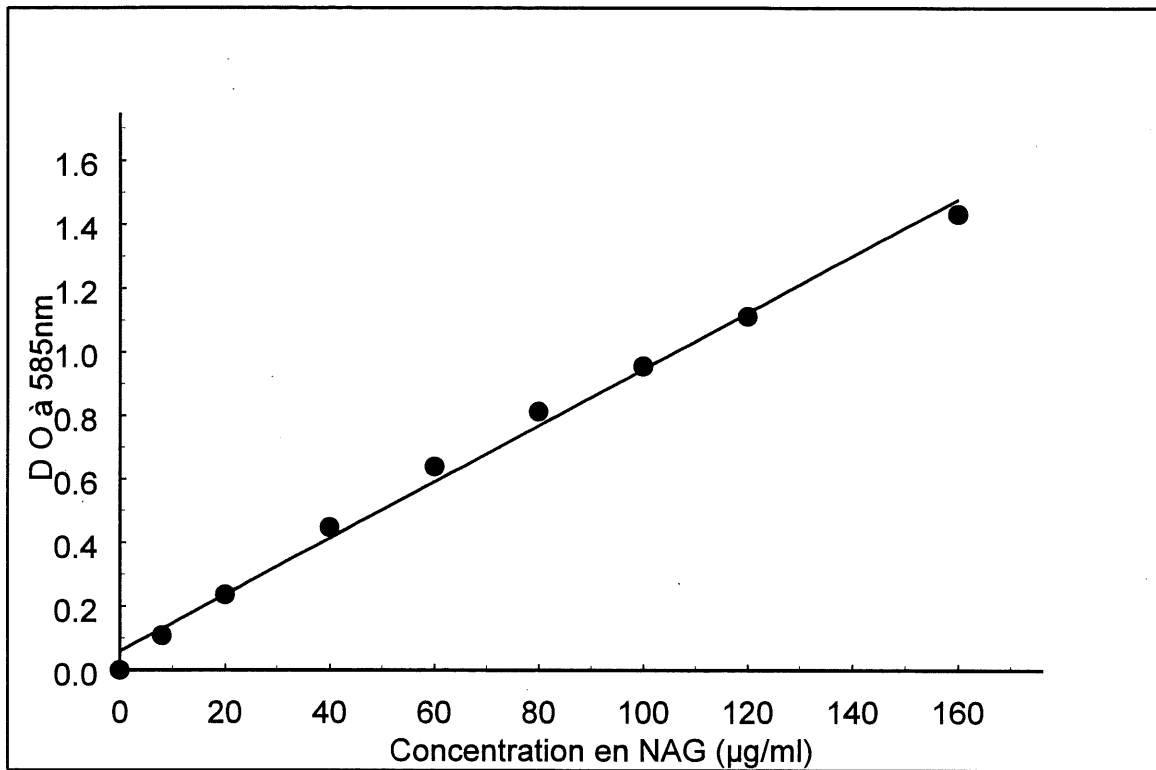
En outre le travail en laboratoire, des essais à moyenne échelle (120l) et grande échelle (20m<sup>3</sup>) ont été entrepris au CRIQ et les résultats préliminaires sont encourageants et très similaires à ceux obtenus à petite échelle. Ceci confirme la pertinence de notre approche en laboratoire.

L'étude de l'évolution de la microflore au cours du compostage est présentement en cours. À venir sont l'étude en serre et en laboratoire pour vérifier si nos composts possèdent des propriétés fongistatiques et phytoprotectrices. Ces études se tiendront au Ministère de l'Agriculture, Pêcheries et Alimentation du Québec (MAPAQ) et à la ferme expérimentale de Lennoxville.

Finalement, un essai d'application de notre compost en parcelle de champ sera fait à la ferme expérimentale de Lennoxville à l'été 1997 pour évaluer ses qualités d'engrais. L'approche multidisciplinaire à l'étude de faisabilité est complétée à l'heure actuelle par une étude économique technique de la mise à l'échelle industrielle du procédé de compostage et une étude de la perception de la clientèle-cible pour un tel compost à valeur ajoutée vis-à-vis son application alternative. Ces travaux sont effectués aux Départements de génie chimique et d'éducation de l'Université de Sherbrooke, respectivement.

Mentionnons finalement que le compost à base de carapaces de crustacés est déjà sur le marché mais que son mode de production n'a pas été optimisé dans une optique de développement des activités fongistatiques et phytoprotectrices. Nos travaux sont les premiers dirigés vers l'étude de leur apparition dans le compost de même que leur suivi et contrôle.

## ANNEXE A



**Figure 6: Courbe standard du dosage Morgan-Elson de la NAG. DO à 585nm en fonction de la concentration en µg/ml.**

## BIBLIOGRAPHIE

BEAUCHEMIN, S., N'DAYEGAMIYE, A. et LAVERDIÈRE, M.R. 1992. Phytotoxicité des matériaux ligneux frais et composts utilisés comme amendements organiques des sols. Can. J. Soil Sci. 72: 177-181.

BENEDICT, A.H., EPSTEIN, E. et ENGLISH, J.N. 1986. Municipal sludge composting - technology evaluation. J. Water Pollut. Control Fed. 58(4): 279-289.

BENHAMOU, N., LAFONTAINE, P.J. et NICOLE, M. 1994. Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan. Phytopathol. 84: 1432-1444.

BIELY, P., MISLOVICOVA, D., TOMAN, R. 1985. Soluble chromogenic substrates for the assay of endo-1,4- $\beta$ -xylanases and endo-1,4- $\beta$ -glucanases. Anal. Biochem. 144: 142-146.

BUREAU DE NORMALISATION DU QUÉBEC (BNQ) et CONSEIL CANADIEN DES NORMES. 1996. Norme Nationale du Canada - amendements organiques. Bibliothèque nationale du Québec.

CAMPBELL, C.D., DARBYSHIRE, J.-F et ANDERSON, J.G. 1990. The composting of tree bark in small reactors - self-heating experiments. Biol. Wastes 31: 145-161.

CONSEIL DES PRODUCTIONS VÉGÉTALES DU QUÉBEC. 1988. Méthodes d'analyse des sols, des fumiers et des tissus végétaux. p.CO-1.

CRAFT, C. M., NELSON, E. B. 1996. Microbial properties of composts that suppress damping-off and root rot of creeping bentgrass caused by *Pythium graminicola*. Appl. Environ. Microbiol. 62(5): 1550-1557.

EPSTEIN, E., TAYLOR, J.M. et CAHNEY R.L. 1976. Effects of sewage sludge and sludge compost applied to soil on some soil physical and chemical properties. J. Environ. Qual. 5(4): 422-426.

FINSTEIN, M.S., MILLER, F.C., HOGAN, J.A. et STROM, P.F. 1987. Analysis of EPA guidance on composting sludge. Part III - oxygen, moisture, odor, pathogens. Biocycle 28(3): 38-44.

FINSTEIN, M.S., MILLER, F.C. et STROM, P.F. 1986. Monitoring and evaluating composting process performance. J. Water Pollut. Control Fed. 58(4): 272-278.

FINSTEIN, M.S., MILLER, F.C. et STROM, P.F. 1986. Waste treatment composting as a controlled system. dans: Biotechnology - microbial degradations (Vol 8). Éditeur: Schönborn, W. VCH. pp.363-398.

GARCIA, C., HERNANDEZ, T. et COSTA, F. 1990. Color changes of organic wastes during composting and maturation processes. Soil Sci. Plant Nutr. 36(2): 243-250.

GARCIA, C., HERNANDEZ, T. et COSTA, F. 1992. Mineralization in a calcareous soil of a sewage sludge composted with different organic residues. Waste Manage. Res. 10(5): 445-452.

HADWIGER, L.A., CHIAN, C., VICTORY, S. et HOROVITZ, D. 1989. The molecular biology of chitosan in plant/pathogen interactions and its application in agriculture applications. dans Chitin and chitosan. Éditeurs: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. et Sanford, P. Elsevier Applied Science, New York. pp.119-138.

HARADA, Y. et INOKO, A. 1980. The measurement of the cation-exchange capacity of composts for the estimation of the degree of maturity. Soil Sci. Plant Nutr. 26(1): 127-134.

HAUG, R.T. 1993. The practical handbook of compost engineering. Lewis Publishers, Boca Raton.

HENRY, C.L. 1990. Technical information on the use of organic materials as soil amendments, a litterature review - effects of composting processes on compost quality. pp.14-20.

HENRY, C.L. 1990. Technical information on the use of organic materials as soil amendments, a litterature review - effects of compost applications on plants. pp.53-67.

HIGGINS, A.J. 1982. Ventilation for static pile composting. Biocycle 23(4): 36-41.

HIRANO, S. 1989. Production and application of chitin and chitosan in Japan. dans Chitin and chitosan. Éditeurs: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. et Sanford, P. Elsevier Applied Science, New York. pp.37-43.

HOITINK, H. A. J., INBAR, Y. and BOEHM, M. J. 1991. Status of compost-amended potting mixes naturally suppressive to soilborne diseases of floricultural crops. Plant Dis. 75(9): 869-873.

HOITINK, H. A. J. 1986. Basis for the control of soilborne plant pathogens with composts. *Ann. Rev. Phytopathol.* 24: 93-114.

HORWITZ, W.H. 1980. *Official Methods of the A.O.A.C.*, 13<sup>éd.</sup> A.O.A.C. Washington. pp. 15:2.057.

JELLUM, E. J., KUO, S., SAINJU, U. 1995. Mineralization and plant availability of nitrogen in seafood waste composts in soils. *Soil Sci.* 160(2): 125-135.

LAFONTAINE, P.J. et BENHAMOU, N. 1996. Chitosan treatment: an engineering strategy for enhancing resistance of greenhouse tomato plants to infection by *Fusarium oxysporum* f.sp. *Radici-lycopersici*. *Biocontrol Sci. Tech.* 6(1): 111-124

LANG, G., CLAUSEN, T. 1989. The use of chitosan in cosmetics. dans *Chitin and chitosan*. Éditeurs: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. et Sanford, P. Elsevier Applied Science, New York. pp.139-147.

LI, T., BRZEZINSKI, R. and BEAULIEU, C. 1995. Enzymatic production of chitosan oligomers. *Plant Physiol. Biochem.* 33(5): 599-603.

MATHUR, S.P., DAIGLE, J.-Y., BROOKS, J.L., LÉVESQUE, M. et ARSENAULT, J. 1988. Composting seafood wastes. *Biocycle* 29(8): 44-49.

MATHUR, S.P., DINEL, H., OWEN, G., SCHNITZER, M. et DUGAN, J. 1993. Determination of compost biomaturity. II - Optical density of water extracts of composts as a reflection of their maturity. *Biol. Agric. Hort.* 10(2): 87-108.



MARKEY, M.L., BOWMAN, L. M. et BERGAMINI, M.V.W. 1989. Contact lenses made of chitosan - cosmetics. dans Chitin and chitosan. Éditeurs: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. et Sanford, P. Elsevier Applied Science, New York. pp.713-718.

MARTIN, A.M. 1993. Comparative effects of peat and sawdust employed as bulking agents in composting. Bioresour. Technol. 44(1): 65-70.

MUIRHEAD, T., LAFOND, P. et BUCKLEY, S. 1993. Odor control for biosolids composting. Biocycle 34(3): 64-70.

MUSTIN, M. 1987. Le compost - gestion de la matière organique. Éditions François Dubusc, Paris. pp.226-237.

MUZZARELLI, R.A.A. 1993. Advances in N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidases. dans Chitin Enzymology. Éditeur: Muzzarelli, R.A.A. European Chitin Society, Ancona. pp. 357-373

NISHIHARA, T., KOSUGI, M., MATSUE, Y., NISHIKAWA, J., TAKASAKI, A., TAKUBO, Y. et KONDO, M. 1992. Antimicrobial activity of positive colloids against food-poisoning bacteria. J. Antibact. Antifung. Agents 20(5): 241-245.

PENNISI, E. 1993. Chitin craze. Science News 144(5): 72-74.

PETER, M. G. 1995. Applications and environmental aspects of chitin and chitosan. JMS - Pure Appl. Chem. A32(4): 629-640.

PINETTE, J.R., GIGGEY, M.D., HENDRY, G.E. et RICHARDSON, C.M. 1993. Moisture balance of an open biofilter. *Compost Sci. Util.* 1(2): 8-22.

REISSIG, J.L., STROMINGER, J.L. et LELOIR, L.F. 1955. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylaminosugars. *J. Biol. Chem.* 217: 959-966.

RIFFALDI, R., LEVI-MINZI, R., PERA, A. et deBERTOLDI, M. 1986. Evaluation of compost maturity by means of chemical and microbial analyses. *Waste Manage. Res.* 4: 387-396.

SANFORD, P. A. 1989. Chitosan: uses and potential applications. dans *Chitin and chitosan*. Éditeurs: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. et Sanford, P. Elsevier Applied Science, New York. pp.51-70.

SCHERRER, B. 1984. *Biostatistique*. Gaëtan Morin Éditeur, Chicoutimi. pp.261-287.

SEGALL, L. 1995. Marketing compost as a pest control product. *Biocycle* 36(5): 65-67.

SENESE, N. 1989. Composted materials as organic fertilizers. *Sci. Total Environ.* 81: 521-542.

SENG, J.-M. 1987. Chitine, chitosane et dérivés: de nouvelles perspectives pour l'industrie. *Biofutur* 71: 41-44.

SIKORA, L.J. et SOWERS, M.A. 1985. Effect of temperature control on the composting process. *J. Environ. Qual.* 14(3): 434-439.

SPIRO, R.G. 1966. The Nelson-Somogyi copper reduction method. Meth. Enzymol. 8: 7-9.

STRUSZCZYK, H., POSPIESZNY, H. et KOTLINSKI, S. 1989. Some new applications of chitosan in agriculture. dans Chitin and chitosan. Éditeurs: Skjak-Braek, G., Anthonsen, T. et Sanford, P. Elsevier Applied Science, New York. pp.733-742.

SULER, D.J., et FINSTEIN, M.S. 1977. Effect of temperature, aeration and moisture on CO<sub>2</sub> formation in bench-scale, continuously thermophilic composting of solid-waste. Appl. Environ. Microbiol. 33(2): 345-350.

VEERAPAN, C., HIRAI, M. et KUBOTA, H. 1982. Changes of chemical components and nitrogen transformation in water extracts during composting of garbage. J. Ferment. Technol. 60(5): 439-446.

VEERAPAN, C. et KUBOTA, H. 1981. Carbon / organic nitrogen ratio in water extracts as measure of composting degradation. J. Ferment. Technol. 59(3): 215-219.

VERDONCK, O. 1988. Composts from organic waste materials as substitutes for the usual horticultural substrates. Biol. Wastes 26: 325-330.

WALKLEY, A. 1946. A Critical examination of a rapid method of determining organic carbon in soil effect of variation in digestion conditions and of organic soil constituents. Soil Sci. 63: 251-263.

YU, C., BASSKER, B.L., LEE, Y.C. et ROSEMAN, S. 1991. Chitin utilization by marine bacteria - degradation and catabolism of chitin oligosaccharides by *Vibrio furnissii*. J. Biol. Chem. 266: 24276.