UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
2016

FACULTE DE PHARMACIE

T H E S E

Présentée et soutenue publiquement

le 17 Juin 2016, sur un sujet dédié à :

La méthanisation : principe et inhibition par les antibiotiques

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Paul TATANGELO**

né(e) le 18 Décembre 1988

Membres du Jury

Président :	Pr. Raphael Duval	Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Nancy
Directeurs:	Nouceiba Adouani	Maitre de Conférences des Universités, LRGP, Nancy
	Pr. Raphael Duval	Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie, Nancy
Juges :	Pr. Jean-Claude Block	Professeur Emerite, Faculté de Pharmacie, Nancy
	Béatrice Demore	Maitre de Conférences Des Universités, Praticien Hospitalier aux Hopitaux de Brabois, Nancy

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2015-2016

DOYEN
Francine PAULUS
Vice-Doyen
Béatrice FAIVRE
Directeur des Etudes
Virginie PICHON
Conseil de la Pédagogie
Président, Brigitte LEININGER-MULLER
Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier
Président, Béatrice DEMORE
Commission Prospective Facultaire
Président, Christophe GANTZER
Vice-Président, Jean-Louis MERLIN
Commission de la Recherche
Président, Raphaël DUVAL

Responsable de la filière Officine	Béatrice FAIVRE
Responsables de la filière Industrie	Isabelle LARTAUD, Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable de la filière Hôpital	Béatrice DEMORE
Responsable Pharma Plus ENSIC	Jean-Bernard REGNOUF de VAINS
Responsable Pharma Plus ENSAIA	Raphaël DUVAL
Responsable de la Communication	Marie-Paule SAUDER
Responsable de la Cellule de Formation Continue et individuelle	Béatrice FAIVRE
Responsable de la Commission d'agrément des maîtres de stage	Béatrice FAIVRE
Responsables des échanges internationaux	Bertrand RIHN
Responsable ERASMUS	Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE
Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON
Jean-Claude BLOCK
Max HENRY
Gérard SIEST
Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Roger BONALY
Pierre DIXNEUF
Marie-Madeleine GALTEAU
Thérèse GIRARD
Michel JACQUE
Pierre LABRUDE
Vincent LOPPINET
Janine SCHWARTZBROD
Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE
Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT
Mariette BEAUD
Gérald CATAU
Jean-Claude CHEVIN
Jocelyne COLLOMB
Bernard DANGIEN
Marie-Claude FUZELLIER
Françoise HINZELIN
Francine KEDZIEREWICZ
Marie-Hélène LIVERTOUX
Bernard MIGNOT
Jean-Louis MONAL
Blandine MOREAU
Dominique NOTTER
Christine PERDICAKIS
Marie-France POCHON
Anne ROVEL
Maria WELLMAN-ROUSSEAU

ENSEIGNANTS	*Section CNU* *	*Discipline d'enseignement*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ	*82*	*Thérapie cellulaire*
Jean-Louis MERLIN	*82*	*Biologie cellulaire*
Alain NICOLAS	*80*	*Chimie analytique et Bromatologie*
Jean-Michel SIMON	*81*	*Economie de la santé, Législation pharmaceutique*
Nathalie THILLY	*81*	*Santé publique et Epidémiologie*

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	*86*	*Pharmacologie*
Joël DUCOURNEAU	*85*	*Biophysique, Acoustique, Audioprothèse*
Raphaël DUVAL	*87*	*Microbiologie clinique*
Béatrice FAIVRE	*87*	*Biologie cellulaire, Hématologie*
Luc FERRARI	*86*	*Toxicologie*
Pascale FRIANT-MICHEL	*85*	*Mathématiques, Physique*
Christophe GANTZER	*87*	*Microbiologie*
Frédéric JORAND	*87*	*Eau, Santé, Environnement*
Isabelle LARTAUD	*86*	*Pharmacologie*
Dominique LAURAIN-MATTAR	*86*	*Pharmacognosie*
Brigitte LEININGER-MULLER	*87*	*Biochimie*
Pierre LEROY	*85*	*Chimie physique*
Philippe MAINCENT	*85*	*Pharmacie galénique*
Alain MARSURA	*32*	*Chimie organique*
Patrick MENU	*86*	*Physiologie*
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS	*86*	*Chimie thérapeutique*
Bertrand RIHN	*87*	*Biochimie, Biologie moléculaire*

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Béatrice DEMORE	*81*	*Pharmacie clinique*
Julien PERRIN	*82*	*Hématologie biologique*
Marie SOCHA	*81*	*Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique*

MAITRES DE CONFÉRENCES

Sandrine BANAS	*87*	*Parasitologie*
Xavier BELLANGER	*87*	*Parasitologie, Mycologie médicale*
Emmanuelle BENOIT	*86*	*Communication et Santé*
Isabelle BERTRAND	*87*	*Microbiologie*
Michel BOISBRUN	*86*	*Chimie thérapeutique*
François BONNEAUX	*86*	*Chimie thérapeutique*
Ariane BOUDIER	*85*	*Chimie Physique*
Cédric BOURA	*86*	*Physiologie*
Igor CLAROT	*85*	*Chimie analytique*
Joël COULON	*87*	*Biochimie*
Sébastien DADE	*85*	*Bio-informatique*
Dominique DECOLIN	*85*	*Chimie analytique*
Roudayna DIAB	*85*	*Pharmacie galénique*
Natacha DREUMONT	*87*	*Biochimie générale, Biochimie clinique*
Florence DUMARCAY	*86*	*Chimie thérapeutique*
François DUPUIS	*86*	*Pharmacologie*
Adil FAIZ	*85*	*Biophysique, Acoustique*
Anthony GANDIN	*87*	*Mycologie, Botanique*
Caroline GAUCHER	*86*	*Chimie physique, Pharmacologie*
Stéphane GIBAUD	*86*	*Pharmacie clinique*
Thierry HUMBERT	*86*	*Chimie organique*
Olivier JOUBERT	*86*	*Toxicologie, Sécurité sanitaire*

ENSEIGNANTS (suite)	*Section CNU**	*Discipline d'enseignement*
Alexandrine LAMBERT	*85*	*Informatique, Biostatistiques*
Julie LEONHARD	*86/01*	*Droit en Santé*
Christophe MERLIN	*87*	*Microbiologie environnementale*
Maxime MOURER	*86*	*Chimie organique*
Coumba NDIAYE	*86*	*Epidémiologie et Santé publique*
Francine PAULUS	*85*	*Informatique*
Caroline PERRIN-SARRADO	*86*	*Pharmacologie*
Virginie PICHON	*85*	*Biophysique*
Sophie PINEL	*85*	*Informatique en Santé (e-santé)*
Anne SAPIN-MINET	*85*	*Pharmacie galénique*
Marie-Paule SAUDER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Guillaume SAUTREY	*85*	*Chimie analytique*
Rosella SPINA	*86*	*Pharmacognosie*
Gabriel TROCKLE	*86*	*Pharmacologie*
Mihayl VARBANOV	*87*	*Immuno-Virologie*
Marie-Noëlle VAULTIER	*87*	*Mycologie, Botanique*
Emilie VELOT	*86*	*Physiologie-Physiopathologie humaines*
Mohamed ZAIOU	*87*	*Biochimie et Biologie moléculaire*
Colette ZINUTTI	*85*	*Pharmacie galénique*

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER	*86*	*Sémiologie*

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Alexandre HARLE	*82*	*Biologie cellulaire oncologique*

PROFESSEUR AGREGE

Christophe COCHAUD	*11*	*Anglais*

** Disciplines du Conseil National des Universités :*
80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé
82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques
85 ; Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé
86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé
87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

32 : Personnel enseignant-chercheur de sciences en chimie organique, minérale, industrielle

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

SERMENT DES APOTHICAIRES

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Remerciements

Au Professeur Raphael Duval, Président du Jury et co-directeur de thèse, Professeur des Universités, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce Jury, pour sa disponibilité son encadrement,

A Madame Nouceiba Adouani, directrice de thèse, pour son accompagnement, sa disponibilité, et le temps passé à m'encadrer tout au long de cette thèse,

Au Professeur Jean-Claude Block et à Madame Béatrice Demore, pour avoir accepté de juger ce travail et le temps que vous me consacrez,

Aux équipes qui m'ont accueillies durant mes stages. Je remercie particulièrement Madame Pascale Monfort, Pharmacienne au CHR Metz-Thionville pour son accueil et pour m'avoir permis de réaliser un stage extrêmement enrichissant,

A mes parents, qui m'ont permis de mener à bien mes études, pour leur soutien infaillible,

A Clément, à Michael, pour leur patience et leurs conseils,

A Adrien, pour son soutien,

A Sébastien, binôme de travail irremplaçable.

Table des matières

Remerciements **i**

Table des matières **iii**

Table des figures **ix**

Liste des tableaux **xiii**

Introduction **1**

1 Le processus de méthanisation **5**

1.1 Principe 5

1.2 Étapes 7

1.2.1 Hydrolyse 7

1.2.1.1 Aspects chimiques 8

1.2.1.2 Aspects bactériologiques 9

1.2.2 Acidogenèse 9

1.2.3 Acétogenèse 11

1.2.3.1 Aspects chimiques 11

1.2.3.2 Aspect bactériologique 11

1.2.4 Méthanogenèse 11

1.2.4.1 Méthanogenèse acétoclaste 12

1.2.4.2 Méthanogenèse hydrogénophile 12

1.3 Effluents de méthanisation 14

1.3.1 Types d'effluents 14

1.3.2 Effluents particuliers 14

1.3.3 Caractérisation de la demande chimique en oxygène 15

1.3.4 Pouvoir méthanogène 16

1.4 Paramètres influençant la méthanisation 17
1.4.1 Paramètres chimiques 17
1.4.1.1 Influence du dioxygène 17
1.4.1.2 Influence de la température 18
1.4.1.3 Influence du pH 20
1.4.1.4 Influence de l'alcalinité 20
1.4.1.5 Apport en nutriments complémentaires 21
1.4.2 Paramètres technologiques du méthaniseur 21
1.4.2.1 Voies sèche et humide 21
1.4.2.2 Technologie d'alimentation 21
1.4.2.3 Types de réacteur 22
1.4.2.4 Nombre de réacteurs 22
1.4.2.5 Temps de passage 23
1.4.3 Paramètres microbiologiques 23
1.4.4 Pré-traitement 24
1.4.4.1 Pré-traitement mécanique 24
1.4.4.2 Pré-traitement physique 25
1.4.4.3 Pré-traitement chimique 26
1.4.5 Co-méthanisation ou co-digestion 27
1.4.6 Mesures de routine associées 27
1.5 Devenir du biogaz et du digestat 28
1.5.1 Composition du biogaz 28
1.5.2 Valorisation du biogaz 29
1.5.2.1 Production de chaleur 29
1.5.2.2 Production d'électricité 30
1.5.2.3 Cogénération 30
1.5.2.4 Injection dans les réseaux urbains de gaz 31
1.5.3 Equivalence énergétique de la méthanisation 31
1.5.4 Purification et devenir des produits de la méthanisation 32
1.5.4.1 Elements éliminés du biogaz et du digestat 32
1.5.4.2 Traitement du digestat 32
1.5.4.3 Traitement du biogaz 33

2 Antibiotiques utilisés dans l'élevage bovin 35
2.1 Introduction 35
2.2 Liste des antibiotiques utilisés en France chez les bovins 36

2.3 Les beta lactamines . . . 37
2.3.1 Présentation de la famille . . . 37
2.3.1.1 Structure chimique . . . 37
2.3.1.2 Mécanisme d'action . . . 38
2.3.2 Médicaments à base d'ampicilline . . . 39
2.3.2.1 Ampiciline et colistine . . . 40
2.3.2.2 Ampiciline, colistine et dexaméthasone . . . 41
2.3.2.3 Ampicilline et cloxacilline . . . 42
2.3.3 Médicaments à base d'amoxicilline . . . 42
2.3.3.1 Amoxicilline seule . . . 43
2.3.3.2 Amoxicilline et acide clavulanique . . . 44
2.3.3.3 Amoxicilline, acide clavulanique et prednisolone . . . 44
2.4 Les macrolides . . . 46
2.4.1 Présentation de la classe . . . 46
2.4.1.1 Action des macrolides . . . 46
2.4.2 Médicaments à base de tylosine . . . 47
2.5 Les tetracyclines . . . 48
2.5.1 Présentation de la classe . . . 48
2.5.1.1 Structure chimique et classification . . . 48
2.5.1.2 Action des tetracyclines . . . 49
2.5.2 Médicaments à base de tetracyclines . . . 49
2.5.2.1 Tetracycline . . . 49
2.6 Les polypeptides . . . 51
2.6.1 Présentation de la classe . . . 51
2.6.1.1 Structure . . . 51
2.6.1.2 Action . . . 51
2.6.2 Médicaments à base de colistine . . . 52
2.7 Les aminosides . . . 56
2.7.1 Présentation de la classe . . . 56
2.7.2 Médicaments contenant des aminosides . . . 57
2.7.2.1 Streptomycine . . . 57
2.7.2.2 Neomycine . . . 60
2.7.2.3 Framycetine . . . 62
2.8 Les sulfamides . . . 63
2.8.1 Présentation de la classe . . . 63
2.8.2 Médicaments à base de sulfamides . . . 64
2.8.2.1 Triméthoprime . . . 64

2.9 Les quinolones 65
2.9.1 Présentation de la classe 65
2.9.2 Médicaments à base de quinolones 66
2.9.2.1 Enrofloxacine 66

3 Inhibition de la méthanisation 69
3.1 Inhibition par des substances chimiques organiques 70
3.1.1 Chlorophénols 70
3.1.2 Aliphatiques halogénés 71
3.1.3 Acides gras à chaine longue et acidose 72
3.2 Inhibition par des substances chimiques inorganiques 73
3.2.1 Ammoniac 73
3.2.2 Oxygène 74
3.2.3 Sulfure d'hydrogène 74
3.2.4 Métaux lourds 74
3.3 Inhibition par les antibiotiques 75
3.3.1 Ampicilline 76
3.3.2 Thiamphenicol 76
3.3.3 Amoxicilline 77
3.3.4 Tylosine 77
3.3.5 Sulfonamides 77
3.3.6 Oxytetracycline 78

4 Expérimentations 79
4.1 Introduction 79
4.1.1 Contexte 79
4.1.2 Nature de l'étude 80
4.2 Matériel et méthodes 80
4.2.1 Milieu réactionnel 80
4.2.2 Approvisionnement et préparation du lisier 81
4.2.2.1 Détermination du taux de matière sèche 81
4.2.2.2 Détermination du taux de matière organique 82
4.2.3 Préparation des solutions et des batchs 82
4.2.3.1 Préparation de la solution tampon 83
4.2.3.2 Définition des batchs 83
4.2.3.3 Préparation des batchs 84

4.2.3.4 Calibration de la fraction volumique en méthane et dioxyde de carbone 85
4.2.4 Relevés et mesures effectuées durant l'expérimentation 85
4.2.4.1 Volume de biogaz produit 86
4.2.4.2 Composition du biogaz produit 87
4.2.4.3 Traitement des résultats 89
4.3 Résultats et intepretation 89
4.3.1 Batchs témoins 90
4.3.2 Batchs contenant de la colistine 91
4.3.2.1 Volumes de biogaz et de méthane produits 91
4.3.2.2 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone 93
4.3.2.3 Fractions volumiques en dioxyde de carbone, en dihydrogène et en azote 97
4.3.3 Batchs contenant de la streptomycine 100
4.3.3.1 Volumes de biogaz et de méthane produits 100
4.3.3.2 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone 102
4.3.3.3 Fractions volumiques en dioxyde de carbone, en dihydrogène et en azote 107
4.3.4 Variabilité des batchs 109

Conclusion et perspectives **119**

Bibliographie **125**

Table des figures

1.1.1 Principe simplifié de la méthanisation 6
1.2.1 Principe de l'hydrolyse 8
1.2.2 Hydrolyse des triglycérides par la lipase ("Division de génétique) 8
1.2.3 Principe de l'acidogenèse 10
1.2.4 Principales étapes de la méthanisation 13
1.4.1 Cycles pour une alimentation de type SBR (d'après (Hamilton, 2012)) . . 22

2.3.1 Péniciline G 37
2.3.2 Mécanisme d'action des beta-lactamines (Philippon, 2014) 38
2.3.3 Ampicilline 40
2.3.4 Structure de l'amoxicilline (Karimian *et al.*, 2015) 43
2.3.5 Structure de la prednisolone (Chen *et al.*, 2009) 44
2.4.1 Structure chimique de la tylosine(Shen *et al.*, 2015) 48
2.5.1 Tetracycline 48
2.6.1 Mode d'action des polypeptides (Biswas *et al.*, 2012) 52
2.7.1 Mode d'action des antibiotiques sur le ribosome bactérien (Marieb, 2001) 57
2.7.2 Streptomycine 58
2.8.1 Structure chimique de la triméthoprime (Jewell *et al.*, 2015) 64
2.9.1 Structure de l'enrofloxacine (Widmann, 2008) 66

4.2.1 Milieu réactionnel de méthanisation en batch 81
4.2.2 Détermination du taux de matière sèche 82
4.2.3 Batchs placés en étuve à 37 °C 85
4.2.4 Méthode de mesure des volumes de biogaz dans les batchs 87
4.2.5 Appareillage de chromatographie en phase gazeuse 89
4.3.1 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone dans les batchs témoins 90
4.3.2 Volumes de biogaz en fonction du temps pour les batchs contenant de la colistine 91

4.3.3 Volumes de méthane en fonction du temps pour les batchs contenant de la colistine 92
4.3.4 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en colistine de 0,01 mg/L (C1) 93
4.3.5 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en colistine de 0,1 mg/L (C2) 94
4.3.6 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en colistine de 1 mg/L (C3) 95
4.3.7 Fractions volumiques de méthane en fonction de la concentration en colistine 96
4.3.8 Fractions volumiques de dioxyde de carbone en fonction de la concentration en colistine 97
4.3.9 Fractions volumiques de dihydrogène en fonction de la concentration en colistine 98
4.3.10 Fractions volumiques de diazote en fonction de la concentration en colistine 99
4.3.11 Volumes de biogaz en fonction du temps pour les batchs contenant de la streptomycine 100
4.3.12 Volumes de méthane en fonction du temps pour les batchs contenant de la streptomycine 101
4.3.13 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en streptomycine de 0,8 mg/L (S1) 102
4.3.14 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en streptomycine de 8 mg/L (S2) 103
4.3.15 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en streptomycine de 80 mg/L (S3) 104
4.3.16 Fractions volumiques de méthane en fonction de la concentration en streptomycine 105
4.3.17 Fractions volumiques de dioxyde de carbone en fonction de la concentration en streptomycine 107
4.3.18 Fractions volumiques de dihydrogène en fonction de la concentration en streptomycine 108
4.3.19 Fractions volumiques de diazote en fonction de la concentration en streptomycine 109
4.3.20 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs témoins et écart-type 110
4.3.21 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en colistine de 0,01 mg/L (C1) et écart-type 111
4.3.22 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en colistine de 0,1 mg/L (C2) et écart-type 112

4.3.23 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en colistine de 1 mg/L (C3) et écart-type 113
4.3.24 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en streptomycine de 0,8 mg/L (S1) et écart-type 114
4.3.25 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en streptomycine de 8 mg/L (S2) et écart-type 115
4.3.26 Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en streptomycine de 80 mg/L (S3) et écart-type 116

4.0.1 Calibration des fractions volumiques : régressions linéaires (1) 122
4.0.2 Calibration des fractions volumiques : régressions linéaires (2) 123

Liste des tableaux

1.1 Bactéries intervenant dans l'étape d'acidogénèse de la méthanisation (Cavinato, 2011) 10
1.2 Pouvoir méthanogène de différents substrats de méthanisation (Delfosse *et al.*, 2010; Pion, 2010; Moletta, 2011; Agr, 2011; Bova, 2012; Agence Regionale Energie Réunion, 2013; Trame, 2013) 16
1.3 Températures caractéristiques de croissance de *S. aureus* 19
1.4 Contraintes liées à la technologie du méthaniseur 23
1.5 Mesures de routines à effectuer dans un méthaniseur (Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie Bourgogne, 2010; Damiano, 2011; Arnaud *et al.*, 2011) 28
1.6 Equivalence énergétique de la méthanisation (Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie Bourgogne, 2010; Moletta, 2011) 31

2.1 Antibiotiques autorisés pour la production de nourriture d'origine bovine en France (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 36
2.2 Classification des beta-lactamines 37
2.3 Liste des médicaments sur le marché contenant de l'ampicilline destinés aux bovins (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 40
2.4 Posologie des médicaments à base d'ampicilline, colistine et dexaméthasone (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 42
2.5 Médicaments sur le marché contenant de l'amoxicilline (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 43

2.6 Liste des médicaments sur le marché contenant de l'amoxicilline destinés aux bovins (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 45
2.7 Posologie des médicaments à base d'amoxicilline (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 46
2.8 Médicaments sur le marché contenant de la tetracycline (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 49
2.9 Posologie des médicaments à base de tetracycline (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 50
2.10 Bactéries gram négatif sensibles à la colistine 53
2.11 Médicaments sur le marché contenant de la colistine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 54
2.12 Posologie des médicaments à base de colistine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 55
2.13 Médicaments sur le marché contenant de la streptomycine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 59
2.14 Posologie des médicaments à base de streptomycine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 60
2.15 Médicaments sur le marché contenant de la néomycine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 61
2.16 Posologie des médicaments à base de néomycine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 61
2.17 Médicament sur le marché contenant de la framycetine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 62
2.18 Médicaments sur le marché à l'usage des bovins contenant de la triméthoprime (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 64

2.19 Posologie des médicaments à base de triméthoprime (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 65
2.20 Médicaments sur le marché à l'usage des bovins contenant de l'enrofloxacine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 67
2.21 Posologie des médicaments à base de quinolones (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015) 68

3.1 Concentrations seuils en aliphatiques halogénés inhibant totalement la méthanogénèse 72

4.1 Liste des batchs 84

Liste des abréviations

AGV Acides Gras Volatils

AMM Autorisation de Mise sur le Marché

DCO Demande Chimique en Oxygène

HAP Hydrocarbures aromatiques polycycliques

NAG N-acétylglucosamine

NAM N-acétylmuranique

OCDE Organisation de Coopération et de Développement Économiques

SBR Sequencing Batch Reactor

TAC Titre Alcalimétrique Complet

VLEP Valeurs limites d'exposition professionnelle

Introduction

Perspectives de développement énergétique

D'après l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Économiques), la demande en énergie au niveau mondial en 2100 sera deux à cinq fois plus importante qu'en 1990, et les émissions nettes de carbones pourraient être multipliées par trois. Aussi, l'activité économique mondiale aura été transférée en grande partie aux pays actuellement en voie de développement qui possèderont alors une productivité équivalente à celle des pays industrialisés actuels. Selon ces scenarios, la population mondiale serait de 11,7 milliards en 2100 alors qu'elle était de 5,3 milliards en 1990. Enfin, le produit mondial brut aura été multiplié d'un facteur de dix à quinze (OCDE, 1999).

Cette augmentation démographique sera correlée, outre à une demande croissante en énergie, à une élévation drastique de la production mondiale de déchets solides. Cette dernière sera trois fois plus importante qu'en 2010 et atteindra 11 millions de tonnes par jour (Hoornweg *et al.*, 2013). Leur traitement deviendra un véritable enjeu, à l'échelle de la planète.

Ainsi, bien que de nouveaux gisements fossiles aient été découverts, et que leur disparition n'est plus à l'ordre du jour sur un moyen terme, ces hypothèses prédisent que la part des énergies vertes augmentera dans les prochaines décennies. En particulier, le revenu moyen par habitant sur Terre connaitra une croissance progressive : ceci sera concomitant à une prise de conscience écologique au niveau des pays alors industrialisés et entrainera une demande plus importante de sources d'énergies vertes et respectueuses de l'environnement.

Enfin, les décisions écologiques récentes comme celles issues de la COP 21 à Paris en 2015 prônent et incitent à l'usage des énergies renouvelables. Ceci passe notamment

par des incitations économiques. D'après le Ministère de l'Environnement, de l'Energie et de la Mer, la France s'est fixée comme objectif en 2010 de porter à 23 % pour 2020 la part d'énergies renouvelables dans sa consommation totale d'énergie, soit plus du double qu'en 2005 (OCDE, 1999). En 2014, la France comporte 330 unités de méthanisation.

Place de la méthanisation et enjeux

La méthanisation, couplée à d'autres méthodes de production d'énergies vertes, est une réponse partielle à ces problématiques. Ce processus biologique permet de produire du biogaz, composé majoritairement de méthane et de dioxyde de carbone, pouvant être injecté dans les réseaux urbains après purification ou brûlé directement sous forme de chaleur. Celle-ci pourra servir à la production d'électricité. Certaines techniques dites de co-génération ont pour avantage de générer à la fois de la chaleur et de l'électricité.

Les réactifs utilisables pour ce processus biologique sont de nature variée, et concernent l'ensemble des déchets organiques, comme les boues issues des stations d'épuration ou encore les rejets agricoles. Ces substances seront par cet intermédiaire traitées sous une forme valorisée et constituent une alternative bénéfique à leur stockage ou leur incinération. Il apparait donc que sur le long terme, la méthanisation peut constituer un moyen de lutte à la fois contre l'augmentation des déchets en zone urbaine et la demande d'énergie croissante. D'après l'ADEME, le secteur agricole génère 20% des émissions de gaz à effet de serre en France, et le traitement des déchets agricoles permettrait de diminuer celles-ci tout en répondant en partie aux problématiques énergétiques.

La méthanisation est basée sur la fermentation anaérobie, c'est-à-dire l'assimilation des déchets organiques par les bactéries dans un milieu privé d'oxygène. C'est un processus biologique, industrialisé sous la forme de petites unités agricoles ou de grandes installations urbaines, où les paramètres opératoires sont contrôlés et optimisés. La méthanisation possède également d'autres atouts comme la production d'engrais à haute valeure fertilisante. Les effluents de nature organiques sont également désodorisés (Almansour, 2011).

Cependant, le devenir de la méthanisation est soumis à plusieurs enjeux : d'une part, la rentabilité des installations industrielles est encore trop faible à ce jour, notamment à cause d'investissements initiaux importants. Enfin, la méthanisation est très sensible aux conditions opératoires telles que le pH, la température ou l'alcalinité du milieu. De plus, des substances présentes dans le milieu réactionnel, provenant des déchets

utilisés, peuvent produire une inhibition non négligeable du processus, voire son arrêt complet.

Plan et objectifs

Dans l'optique d'étudier ces paramètres d'inhibition, nous nous intéresserons plus particulièrement à la méthanisation du lisier bovin en secteur agricole et son inhibition par deux antibiotiques, la streptomycine et la colistine. En effet, ce sont des substances couramment administrées à ces animaux et qui sont retrouvées dans le lisier qui sera ensuite introduit dans les réacteurs. Il se pourrait donc que ces molécules produisent un effet sur la méthanisation. En particulier, une modification des paramètres physico-chimiques du milieu de fermentation pourrait avoir un impact sur le volume de biogaz produit et sa fraction en méthane.

La première partie de ce travail sera consacrée à une étude bibliographique sur le processus de méthanisation. D'une part, les différentes étapes seront étudiées, tant d'un point de vue chimique que bactériologique, puis différents effluents pouvant être utilisés comme réactifs seront passés en revue, ainsi que leur potentiel de production de méthane. Ensuite, les paramètres monitorés à l'échelle industrielle et influençant le processus seront étudiés et certaines techniques permettant d'améliorer le rendement seront passées en revue. Enfin, la dernière section de cette partie sera consacrée au devenir possible du biogaz et des résidus solides ou liquides.

Dans une deuxième partie, les différents antibiotiques administrés au bovin à ce jour, et les classes d'antibiotiques associées seront passés en revue, ceux-ci étant susceptibles d'être détectés dans les déchets agricoles et donc de produire un effet sur la méthanisation.

Dans la troisième partie de ce mémoire, nous nous intéresserons aux paramètres inhibiteurs de la méthanisation, en particulier les antibiotiques.

Enfin, la dernière partie présentera l'étude effectuée dans le cadre de l'équipe Sols et Eaux, au Laboratoire Réactions et Génie des Procédés à Nancy, sur l'effet de la streptomycine et de la colistine sur la méthanisation.

Chapitre 1

Le processus de méthanisation

1.1 Principe

La méthanisation consiste en la transformation biologique, en milieu anaérobie, de la matière organique sous l'action de microorganismes. Les produits obtenus sont de deux types : le biogaz et un sous-produit solide appelé digestat. L'ensemble des réactions qui se produisent sont appelées « digestion anaérobie » ou encore « fermentation anaérobie ». Usuellement, ces termes sont confondus avec le terme de « méthanisation ».

Le biogaz obtenu est principalement composé de méthane (CH_4) et de gaz carbonique (CO_2), dont les quantités respectives sont en moyenne de 60 et 40 %. Dans la plupart des installations industrielles, le méthane va ensuite être transformé en électricité, en chaleur ou les deux simultanément par un procédé de cogénération. Il peut également être purifié et réinjecté dans les réseaux de gaz de ville. Les sous-produits restants sont le digestat, lors de la méthanisation de produits solides et semi-liquides, et l'éluat si les produits méthanisés sont liquides.

La méthanisation est de plus en plus convoitée par les industriels, et de nombreuses recherches sont en cours pour améliorer ce procédé. Ses bénéfices se situent tant au niveau économique qu'écologique. Il s'agit également d'un moyen efficace pour éliminer certains types de déchets et pour les convertir en produits valorisables économiquement.

Ainsi, les déchets utilisés comme substrat pour la méthanisation sont de nature très variée : il s'agit de déchets provenant de stations d'épuration, d'exploitations agricoles, ménagers, industriels ou encore d'enfouissement de déchets.

Cependant, la digestion anaérobie est très sensible aux conditions opératoires. Ainsi, différentes études ont montré qu'une variation de pH, de température ou d'autres paramètres chimiques ou physiques du milieu réactionnel peuvent conduire à une baisse importante de la production de méthane.

La dégradation mésophile est la plus courante (Chen *et al.*, 2014).

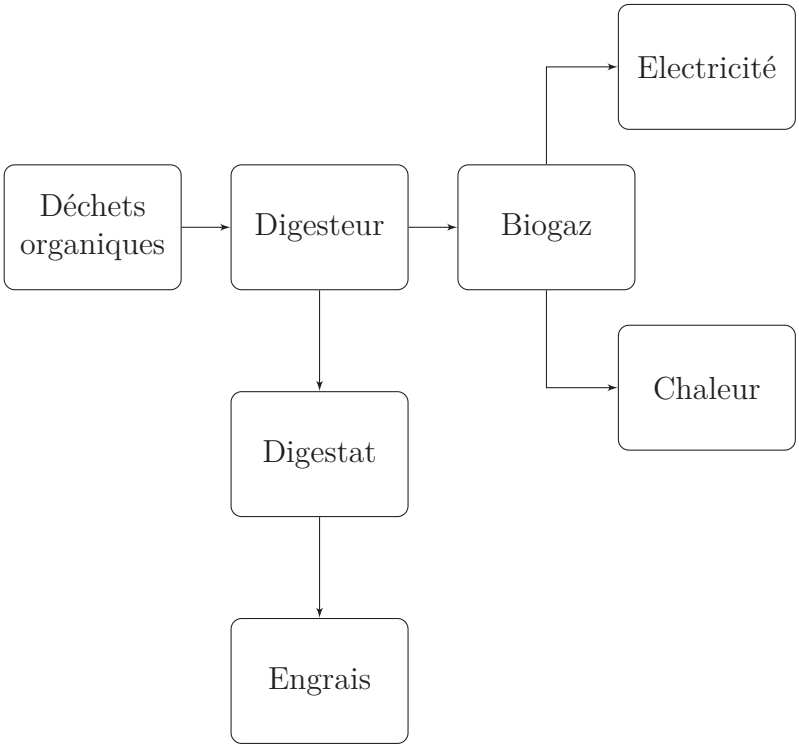


FIGURE 1.1.1 – Principe simplifié de la méthanisation

La réaction de digestion anaérobie peut être écrite sous la forme suivante (Moletta, 2011) :

$$C_6H_{12}O_6 + 3\,H_2O \longrightarrow 3\,CH_4 + 3\,HCO_3{}^- + 3\,H^+ \tag{1.1.1}$$

Par rapport à une dégradation en milieu aérobie, la méthanisation a les avantages suivants :

- La quantité globale d'énergie à fournir, dans l'optique d'une installation à l'échelle industrielle, est moindre
- En sortie de processus, moins de déchets sont à éliminer par voie classique (incinération...)
- Meilleur rendement
- Elimination accrue des agents pathogènes présents dans le milieu (Chen *et al.*, 2014).

Cependant, les inconvénients de la méthanisation sont une grande sensibilité aux toxiques organiques et aux substances contenus dans le milieu réactionnel(Chen *et al.*, 2014). Dans le cadre de son application, il est donc nécessaire d'étudier les éléments potentiellement inhibiteurs.

1.2 Étapes

Le processus de méthanisation met en oeuvre un ensemble complexe de réactions biologiques en milieu anaérobie. A chaque étape de son déroulement, de nombreuses espèces de bactéries interviennent, notamment des populations d'eucaryotes, procaryotes et d'archées. Sur 579 microorganismes analysés, une étude a déterminé 146 espèces différentes (Godon *et al.*, 1997).

La méthanisation peut être décomposée en quatre étapes principales :

1. Hydrolyse
2. Acidogenèse
3. Acétogenèse
4. Méthanogenèse

Ce schéma a a été proposé par Zeikus lors du congrès mondial de la digestion anaérobie qui s'est déroulé en 1980 à Cardiff. Il s'agit du schéma de référence à ce jour (Buffiere *et al.*, 2009).

1.2.1 Hydrolyse

Les réactions d'hydrolyse consistent à transformer les molécules complexes et de haut poids moléculaire composant la matière organique solide (protéines, lipides, polysaccharides) en intermédiaires monomériques solubles. Ainsi, les protéines sont dégradées en acides aminés, les lipides sont hydrolysés en acides gras, et les sucres en monosaccharides, notamment en glucose.

Par exemple, l'hydrolyse des protéines consiste à rompre les liaisons peptidiques entre les acides aminés la composant (organisés en peptides) tout en libérant de l'énergie.

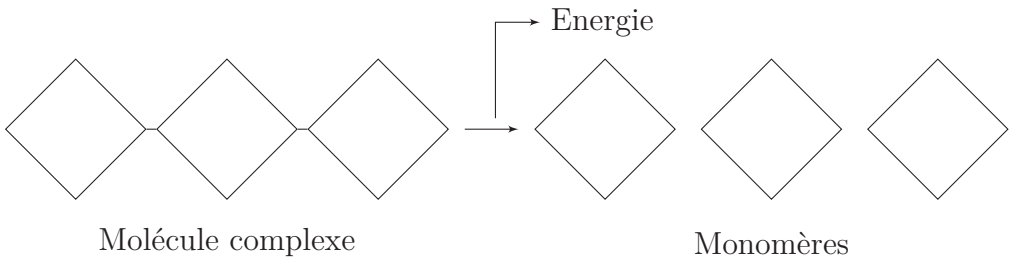


FIGURE 1.2.1 – Principe de l'hydrolyse

Les lipides se trouvent généralement sous forme de triglycérides. Il s'agit d'un assemblage de trois acides gras avec une molécule de glycérol : lors de l'hydrolyse, ces quatre molécules sont séparées.

1.2.1.1 Aspects chimiques

La vitesse de cet ensemble de réactions est lente, notamment en ce qui concerne les réactifs peu ou non solubles. Ceci est souvent le cas des déchets organiques utilisés dans les méthaniseurs (Buffiere *et al.*, 2007; Moletta, 2011; Cazier *et al.*, 2015). En particulier, la lignine est dégradée de manière très lente.

L'hydrolyse est considérée comme étant jusqu'à 40 fois plus lente que l'acidogénèse qui lui succède. Lorsque la matière organique est insoluble dans l'eau, l'hydrolyse est l'étape limitante de la méthanisation (Frédéric et Lugardon, 2007; Moletta, 2011).

Cette étape est effectuée par des enzymes extracellulaires : selon le type de réactif, il peut s'agir d'estérases, de glycosidases, de peptidases ou encore de lipases.

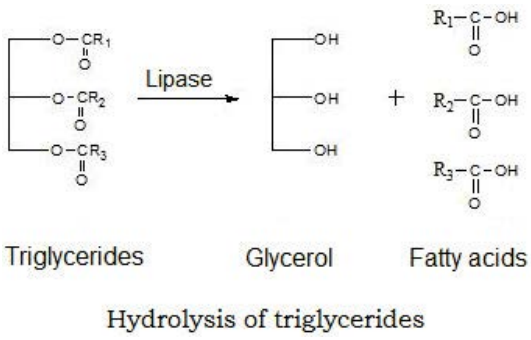


FIGURE 1.2.2 – Hydrolyse des triglycérides par la lipase ("Division de génétique)

Le mélange de matière organique peut être représenté approximativement selon la formule suivante : $C_6H_{10}O_4$ (Ostrem et J. Themelis, 2004). Dans ce cas, les réactions d'hydrolyse pourront, de manière simplifiée, produire du glucose selon la réaction suivante :

$$C_6H_{10}O_4 + 2\,H_2O \longrightarrow C_6H_{12}O_6 + 2\,H_2 \tag{1.2.1}$$

Cette représentation chimique, permet, d'un point de vue théorique et global, de décrire de manière satisfaisante les paramètres chimiques des réactions d'hydrolyse.

1.2.1.2 Aspects bactériologiques

Les bactéries entrant en jeu dans cette étape sont des bactéries ayant des actions hydrolytiques et fermentives (Ostrem et J. Themelis, 2004). En particulier, les polysaccharides sont dégradés par des bactéries du genre *Cellulomonas*, les protéines par *Bacillus* et les lipides par *Mycobacterium*.

Les bactéries principales intervenant dans la dégradation de la cellulose sont *Butyrivibrio fibrosolvens*, *Clostridium cellobioporus*, *Clostridium lochhadii*, *Clostridium thermocellum*, *Clostridium stercorarium*, *Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens* et *Micromonospora bispora*.

Les taux de croissance bactériens sont très élevés dans cette étape, de l'ordre de l'heure (Moletta, 2011).

1.2.2 Acidogenèse

Les monomères précédemment obtenus sont ensuite transformés par des bactéries acidogènes. Les produits générés par les réactions d'acidogénèse sont des composants organiques simples, comme des acides gras volatils (acides acétique, propionique, butyrique, pentanoïque), des alcools, des cétones, ainsi que du dihydrogène et du gaz carbonique.

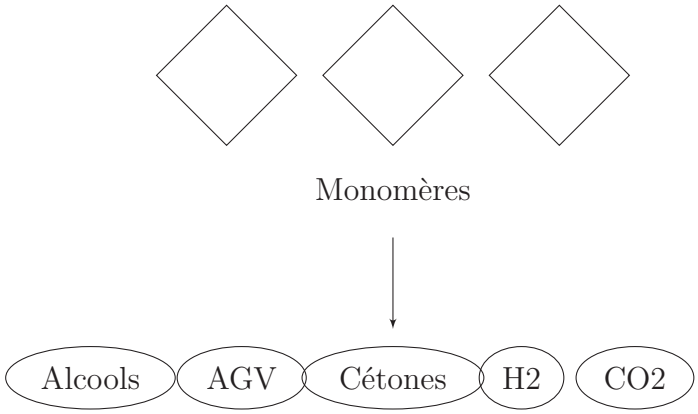


FIGURE 1.2.3 – Principe de l'acidogenèse

En particulier, le glucose est transformé en éthanol selon l'équation suivante (Ostrem et J. Themelis, 2004) :

$$C_6H_{12}O_6 \longleftrightarrow 2\,CH_3CH_2OH + 2\,CO_2$$

D'autres réactions se produisent sur ce réactif, comme sa transformation en succinate, acétate et formiate, selon la réaction suivante (Moletta, 2011) :

$$C_6H_{12}O_6 + HCO_3{}^- \longrightarrow C_4H_4O_4{}^{2-} + C_2H_3O_2{}^- + CHO_2{}^- + 3\,H^+ + H_2O$$

Les bactéries fermentives sont responsables de ces réactions de fermentation.

TABLE 1.1 – Bactéries intervenant dans l'étape d'acidogénèse de la méthanisation (Cavinato, 2011)

Voie chimique	**Produit**	**Bactéries entrant en jeu**
Acétone, butanol	Acétone, butanol, éthanol	*Clostridium*
Butanediol	Acetate, 2,3-butanediol, butylene, éthanol, glycol, lactate, CO_2, H_2	*Enterobacter*
Butyrate	Acetate, butyrate, CO_2, H_2	*Clostridium*
Lactate	Lactate	*Lactobacilus*
Acides mixtes	Acetate, éthanol, lactate, CO_2, H_2	*Escherichia*
Propionate	Propionate	*Propionibacterium*

Les réactions d'acidogenèse conduisent à une acidification du milieu réactionnel. Certaines matières solides comme la lignine ne sont pas dégradées et produisent un effet inhibiteur (Moletta, 2011).

1.2.3 Acétogenèse

1.2.3.1 Aspects chimiques

Cette étape convertit les acides gras et les alcools en acide acétique, en dioxyde de carbone et en dihydrogène (Chen *et al.*, 2014). Ces composés seront utilisés lors de la dernière étape, la méthanogénèse. Ces réactions sont couplées à la formation d'acide acétique à partir d'hydrogène et de gaz carbonique : ce phénomène est nommé homoacétogénèse.

Cette étape est lente et l'hydrogène a un effet inhibiteur sur elle. En effet, les réactions intervenant dans cette étape ont une variation positive d'enthalpie libre. Ainsi, elle ne sont pas favorisées thermodynamiquement et la pression partielle en hydrogène devra être sufisamment basse pour qu'elles se produisent (Buffiere *et al.*, 2009).

1.2.3.2 Aspect bactériologique

Les bactéries qui interviennent dans ces réactions sont classées en trois groupes : les bactéries homoacétogènes, les bactéries sulfatoréductrices et les bactéries acétogènes productrices obligées d'hydrogène. Elles sont dites syntrophiques obligatoires. Leur vitesse de croissance est de l'ordre du jour. Il s'agit de bactéries du genre *Desulfovibrio*, *Aminobacterium* et *Acidaminococcus* (Moletta, 2011; Delfosse, 2011).

1.2.4 Méthanogenèse

Dans cette dernière étape, l'acide acétique, l'hydrogène et le dioxyde de carbone sont transformés en méthane par des microorganismes méthanogéniques (Chen *et al.*, 2014).

Plus précisément, les microorganismes qui interviennent sont les Archées. Celles-ci sont composées à la fois de bactéries à Gram positif et négatif, et leur forme est très variée. Il peut s'agir par exemple de cocci et de bacilles (Chen *et al.*, 2014). Dans le cas de la méthanogenèse, elles sont classées en deux catégories, présentées ci-dessous.

1.2.4.1 Méthanogenèse acétoclaste

Cette étape est réalisée par les bactéries acétoclastes. Celles-ci auront comme action principale la transformation de l'acide acétique en dioxyde de carbone et en méthane.

Généralement, environ 70% du méthane du biogaz obtenu par méthanisation est produit par cette étape.

Les bactéries entrant en jeu sont principalement du genre *Methanothrix* (*M. soehngenii*, *M. concilii*) ou encore *Methanosarcina* (*M. barkeri*, *M. mazei*, *M. acetivorans*).

1.2.4.2 Méthanogenèse hydrogénophile

Ceci est réalisé par les bactéries hydrogénophiles. Ces dernières vont produire du méthane et de l'eau, par l'intermédiaire d'un mécanisme de réduction du dioxyde de carbone par l'hydrogène.

Dans tous les cas, ces transformations se produisent en milieu anaérobie strict uniquement, et du nickel est nécessaire à la croissance de ces populations bactériennes. Aussi, il faudra être attentif à la composition du milieu réactionnel afin de ne pas inhiber cette dernière étape (Delfosse, 2011).

Le principal genre bactérien impliqué dans cette étape est *Methanobacterium* (*M. formicicum*, *M. wolfei*, *M. alcaliphilum*, *M. voltae*).

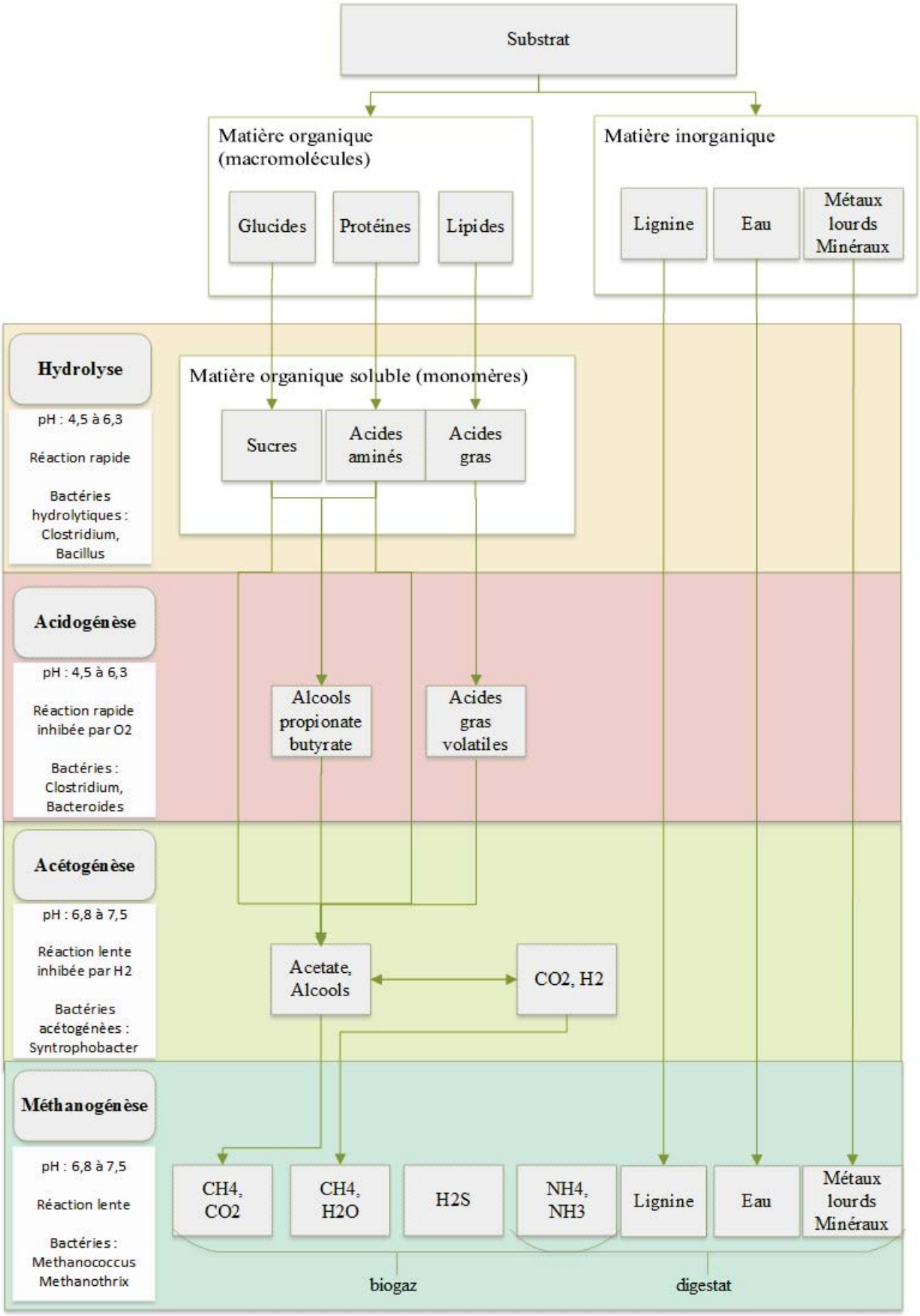


FIGURE 1.2.4 – Principales étapes de la méthanisation

1.3 Effluents de méthanisation

1.3.1 Types d'effluents

Un grand nombre de susbstances peuvent être utilisées en tant que substrats de méthanisation, et seront donc introduites dans le réacteur, initialement ou en continu, dans le but d'être méthanisés. En premier lieu, des déchets de nature très variée sont méthanisés : ceux-ci peuvent être d'origine agricole, industrielle ou urbaine. La plupart des déchets agroalimentaires peuvent être méthanisés : il s'agit des résidus de la restauration, des laiteries, fromageries, ou distilleries.

D'autres composés sont méthanisables, comme les boues de stations d'épuration, les déjections issues de l'élevage, certains déchets ménagers et effluents industriels organiques, les déchets de cuisine, les déchets verts, le papier de bureau, ou le carton. Plus généralement, tout déchet contenant des protéines, lipides ou sucres est susceptible d'être méthanisé (Moletta, 2011).

Il est à noter que les substances riches en lignine, souvent présentes dans les déchets agricoles, présentent un inconvénient lors de la digestion anaérobie. En effet, celles-ci ne sont pas hydrolysées lors de la première étape du processus. Elles nécessitent d'effectuer des pré-traitements, notamment des opérations de séchage. Ces opérations consomment de l'énergie, qui pourra éventuellement être fournie par l'unité de méthanisation (Damien, 2013). Cependant, une fois ces composés éliminés ou pré-dégradés, les déchets végétaux ont un rendement élevé en méthanisation car possèdent beaucoup de carbone(Boileau, 2013).

D'un point de vue général, les déchets riches en graisses (huiles) ou en sucres (fruits) ont un fort rendement de méthanisation, contrairement aux abats et au lisier porcin et bovin (Lejeune, 2008). En effet, ces derniers ont une faible teneur en matière organique. Ils sont utilisés classiquement en co-méthanisation, c'est-à-dire mélangés avec un autre substrat.

1.3.2 Effluents particuliers

L'intérêt de la méthanisation est en réalité double : en plus de valoriser les déchets en produisant de l'énergie, le processus permet de dépolluer certains produits. Cette action est utilisée entre autres pour dépolluer les eaux usées.

Certains déchets de nature industrielle ont un effet néfaste sur l'environnement quand ils y sont relachés, ou doivent passer par des onéreux et complexes circuits de retraitement, d'incinération ou de stockage. En particulier, les résidus provenant de l'industrie pharmaceutique possèdent une problématique de traitement très complexe car ils contiennent de nombreuses substances toxiques pour l'environnement et les êtres-vivants.

Pour remplacer les circuits classiques de retraitement, il peut être envisagé de valoriser certains de ces déchets par méthanisation. Ceci permettra d'une part de produire de l'énergie, et peut d'autre part permettre de dégrader des substances toxiques. Une équipe de recherche (Yin *et al.*, 2015) a étudié et approuvé la faisabilité de cette opération, en respectant certaines conditions. Avant leur rejet, ces déchets doivent subir des opérations de purification pour éliminer les substances pharmaceutiques et toxiques.

Les procédés classiques de traitement des déchets ne peuvent pas enlever de manière efficace les plus petites particules. Ainsi, la dégradation par la biomasse dans le processus de digestion anaérobie aura pour avantage de réduire la charge en produits organiques de ces déchets (Yin *et al.*, 2015).

1.3.3 Caractérisation de la demande chimique en oxygène

Généralement, les effluents sont caractérisés par leur matière organique et/ou leur demande chimique en oxygène (DCO). Cette notion est principalement utilisée dans le domaine du traitement des déchets, pour caractériser le potentiel de valorisation d'un effluent. La DCO représente toute la matière oxydable, qu'elle soit organique ou minérale.

La méthode DCO est par définition basée sur le nombre d'atomes d'oxygène nécessaires pour oxyder les carbones du réactif à caractériser.

L'oxydation du méthane est telle que :

$$\mathrm{CH_4} + 2\,\mathrm{O_2} \longrightarrow \mathrm{CO_2} + 2\,\mathrm{H_2O} \tag{1.3.1}$$

Une mole de méthane nécessite donc deux moles d'oxygène pour être oxydée. Les produits de cette réaction sont le dioxyde de carbone et l'eau. La masse molaire du méthane est de $16,04\,\mathrm{g.mol^{-1}}$. La masse molaire du dioxygène est d'environ $32\,\mathrm{g.mol^{-1}}$.

Ainsi, 16 grammes de méthane correspondent à une demande chimique en oxygène de $32 \cdot 2 = 64$ grammes (Banks, 2011). La notion de demande chimique en oxygène dans le cas de la méthanisation est donc basée sur ce raisonnement.

1.3.4 Pouvoir méthanogène

Afin d'établir une unité commune permettant de comparer la quantité de méthane produite par digestion anaérobie selon le type de déchet, la notion de « pouvoir méthanogène » a été introduite. Celle-ci exprime la charge en DCO du substrat par rapport à la quantité de déchets (Le Bozec, 2011).

Le pouvoir méthanogène peut aussi être défini comme le volume maximal de méthane qui peut être produit par unité d'effluent : il peut s'exprimer en masse ou volume d'effluent, ou en masse de matière organique, ou en charge de DCO (Cresson *et al.*, 2015).

Table 1.2 – Pouvoir méthanogène de différents substrats de méthanisation (Delfosse *et al.*, 2010; Pion, 2010; Moletta, 2011; Agr, 2011; Bova, 2012; Agence Regionale Energie Réunion, 2013; Trame, 2013)

Substrat de méthanisation	**Potentiel méthanogène moyen en m^3/t de matière brute**
Résidus de patisseries	650
Graisses (agro-alimentaire)	452
Colza	350
Céréales	300
Déchets verts	279
Graisses usagées	260
Mélasse	240
Maïs seché	220
Graisses d'abattoir	186
Fumier de volaille	106
Mais ensilé	100
Herbe	100
Foin	100
Déchets ménagers	95
Betteraves fouragères	95
Pelouse	80
Déchets de cantine	63
Pulpe de pomme de terre	50
Petit lait	50
Raisin	40
Fumier de bovin	26
Lisier de bovin	16
Lisier de porc	10

1.4 Paramètres influençant la méthanisation

La méthanisation est un processus complexe impliquant un grand nombre de réactions chimiques et d'espèces bactériennes. Ainsi, de nombreux paramètres, tant chimiques que biologiques ou physiques, ont une incidence majeure sur le processus.

1.4.1 Paramètres chimiques

Les paramètres influant la digestion anaérobie sont principalement :

- La pression partielle en hydrogène
- Le flux organique entrant
- La charge microbienne du réacteur
- Le pH
- La température
- L'accumulation d'acides gras volatils (AGV)
- Certains éléments minéraux : sodium, potassium, calcium, magnésium, sulfure, cuivre, chrome, nickel, zinc
- La présence d'ammoniac
- La présence d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)
- Les métaux lourds (comme le plomb ou le mercure)

1.4.1.1 Influence du dioxygène

La méthanisation s'effectue en milieu anaérobie, c'est-à-dire en l'absence de dioxygène. Les conséquences de ce gaz sur le processus sont difficiles à caractériser. En effet, les effets potentiellement produits en présence d'O_2 peuvent être très variables selon la concentration en oxygène, les substrats utilisés pour la méthanisation et la constitution de la biomasse. De plus, bien que la production de méthane soit inhibée par la présence d'oxygène, les étapes d'hydrolyse et d'acétogénèse sont quant à elles améliorées.

En particulier, la présence en concentration limitée d'oxygène permet de limiter l'accumulation des acides gras volatils. Cependant, comme exposé ci-dessus, ceci peut provoquer une modification de la composition de la biomasse.

Étant donné la variété des paramètres entrant en jeu, ces données sont donc peu prédictives et il conviendra d'éviter le contact du substrat avec l'oxygène, tant à l'échelle du laboratoire qu'industrielle.

Dans le but d'éliminer l'oxygène du milieu, le réacteur est communément inerté à l'azote une fois rempli. Globalement, il semble qu'il soit nécessaire d'atteindre une concentration en oxygène significative avant que celle-ci n'impacte sur la méthanisation, celle valeur étant dépendante de la concentration en biomasse, de la vitesse de l'étape d'hydrolyse, ainsi que du temps de rétention des matières dans le réacteur (Botheju et Bakke, 2011).

1.4.1.2 Influence de la température

La température a une influence majeure sur le rendement du processus de méthanisation.

Comme dans la plupart des réactions chimiques, celle-ci induit une augmentation de la vitesse des réactions quand elle s'élève. La loi d'Arrhenius modélise ce phénomène en définissant le coefficient de vitesse k d'une réaction chimique, tel que :

$$k = A \cdot \exp(\frac{-E_a}{RT})$$

où A est le facteur pré-exponentiel qui modélise les chocs à l'échelle microscopique, entre les molécules. E_a est l'énergie d'activation de la réaction, exprimé en joules par moles. R est la constante des gaz parfaits exprimée en $J.K^{-1}.mol^{-1}$ et T est la température en Kelvin.

L'influence de la température sur la méthanisation ne peut cependant se réduire strictement à des lois de la chimie. En effet, les bactéries, selon leur espèce, ont une température de croissance optimale. Une température supérieure ou inférieure à cette zone de croissance induit une diminution, voire une absence de développement de ces organismes.

Or, la méthanisation est induite par de nombreuses espèces de bactéries, et la température du milieu réactionnel devra donc être compatible avec l'ensemble des espèces. Si la température choisie n'est pas judicieuse, certaines bactéries se développeront plus facilement que d'autres, et des étapes de la méthanisation seront alors favorisées.

Ceci pourra conduire à la baisse de la quantité de biogaz produite, à la diminution de sa teneur en méthane ou encore à l'accumulation de sous-produits dans le milieu réactionnel. Ce dernier élément peut avoir de graves conséquences sur le processus de méthanisation, comme la modification du pH du milieu et ainsi l'arrêt complet de la digestion anaérobie.

Les températures caractéristiques de développement pour sont généralement modélisables à l'aide d'une loi normale (Ellouze et Augustin, 2010) Pour illustration, les températures caractéristiques de croissance de *S. aureus* sont présentées ci-dessous.

Table 1.3 – Températures caractéristiques de croissance de *S. aureus*

Température	**Paramètres de la loi normale associée**	
	Moyenne	**Ecart-Type**
Minimale de croissance	4.59	0.71
Optimale de croissance	39.97	1.60
Maximale de croisssance	44.91	1.04

Les trois gammes de température les plus fréquemment utilisées pour la digestion anaérobie sont les suivantes :

— psychrophiles : 5 à 15 °C
— mésophiles : 15 à 45 °C (optimum à 37 °C)
— thermophiles : 45 à 65 °C (optimum à 55 °C)

La température de 37 °C est la plus souvent mise en oeuvre. En effet, à cette valeur, le rapport entre le rendement de production du méthane et la stabilité du milieu réactionnel est satisfaisant. Cette gamme de température est également la plus résistante aux variations de température du milieu, qui peut varier de 2 à 3 °C sans impact sur la méthanisation (Demuynck *et al.*, 1987; Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie Bourgogne, 2010).

Des études ont cependant démontré que la digestion thermophile était pertinente à bien des égards : outre un temps de démarrage du process réduit, la production de méthane est plus rapide qu'en milieu mésophile. De plus, le taux d'acides gras volatils, problème récurrent des unités de méthanisation, est diminué, ainsi que la croissance des microorganismes non désirés (Cavinato *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2015; Angeriz-Campoy *et al.*, 2015).

1.4.1.3 Influence du pH

Influence du pH sur la réaction biochimique

Le pH a une influence directe sur le rendement de la méthanisation et en particulier sur les réactions chimiques. Le pH optimum est compris entre 6,5 et 8,5 dans des conditions de température thermophile (Zhang *et al.*, 2015).

En particulier, dans le milieu réactionnel, NH_3 est en équilibre avec $NH_4{}^+$ et H_2S avec HS^- et S^{2-}. La proportion de ces éléments en solution varie donc selon le pH et le pKa de ces couples. Il est 9,2 pour le couple ammoniac/ammonium et de 7 pour le sulfre d'hydrogène et ses formes ioniques dissociées. Globalement, les espèces chimiques présentes, dépendantes du pH, pourront posséder un effet activateur ou inhibiteur sur la méthanisation (Daumer *et al.*, 2005; Zdanevitch *et al.*, 2009).

Influence du pH sur la population bactérienne

De même que la température, le pH du milieu réactionnel a un effet prépondérant sur la sélection et la croissance de la population bactérienne. En effet, chaque type de microorganisme possède un intervalle de pH où sa croissance est possible.

Une variation de pH, à l'instar d'une modification de la température, peut favoriser le développement de certaines espèces de bactéries au détriment des autres. Par exemple, un pH de 6,5 favorise les étapes d'hydrolyse et d'acidogénèse (Zhang *et al.*, 2015).

Il est admis qu'un pH supérieur à 8,5 est défavorable à la croissance des bactéries méthanogènes, et qu'un pH inférieur à 5 est inhibiteur pour le processus de méthanisation (Rocío Montañés, 2015).

Le pH initial du milieu réactionnel peut varier fortement selon le substrat à méthaniser. Ainsi, ce milieu doit posséder un pouvoir tampon pour limiter les variations de pH. Il peut être également nécessaire de corriger le pH par ajout de bases fortes ou d'acides forts (Moletta, 2011).

1.4.1.4 Influence de l'alcalinité

L'alcalinité est définie par les acides gras volatils et les bicarbonates présents dans le milieu. L'alcalinité mesurée en $CaCO_3$ doit être d'au moins $1000\,\mathrm{mg.L^{-1}}$.

L'alcalinité du milieu représente directement son pouvoir tampon, c'est-à-dire sa capacité à résister aux variations de pH.

Le carbonate est nécessaire pour assurer l'équilibre des formes de gaz carbonique présents dans le milieu réactionnel (Moletta, 2011).

L'alcalinité est mesurée par l'intérmediaire du titre alcalimétrique complet (TAC), qui est la somme des titres en hydroxyde, carbonate et bicarbonate (Decaudin, 2011).

1.4.1.5 Apport en nutriments complémentaires

Dans la plupart des cas, la méthanisation ne nécessite pas l'ajout d'éléments chimiques ou minéraux.

Cependant, le rapport entre la demande chimique en oxygène, le nombre d'atomes d'azote et de phosphore doit être d'environ 600/7/1.

1.4.2 Paramètres technologiques du méthaniseur

1.4.2.1 Voies sèche et humide

Il existe deux voies technologiques principales pour le processus de méthanisation : la voie sèche et la voie humide. Si le substrat de méthanisation est composé par moins de 20 % de matière sèche, la voie humide sera mise en oeuvre.

1.4.2.2 Technologie d'alimentation

L'alimentation est de type continue si un débit permanent d'entrée et de sortie du réacteur est établi. Ce fonctionnement est dit « en régime permanent ». *A contrario*, l'alimentation est de type batch si le réacteur est vidé puis alimenté de manière discontinue. Le régime est alors transitoire.

Dans la plupart des installations industrielles de méthanisation, l'alimentation est de type continue. Ceci évite tout d'abord un temps d'arrêt de l'installation, nécessaire au vidage et au remplissage du ou des réacteurs entre chaque batch. Ensuite, le principal

problème de l'alimentation discontinue est le stockage du substrat à méthaniser en amont du réacteur. Les capacités nécessaires peuvent rapidement devenir importantes.

Il existe un mode d'alimentation alternatif, hybride, établissant un compromis entre les deux types présentés ci-dessus. Il s'agit du SBR (Sequencing Batch Reactor), dit à « boues activées ». Des cycles sont opérés au niveau du réacteur.

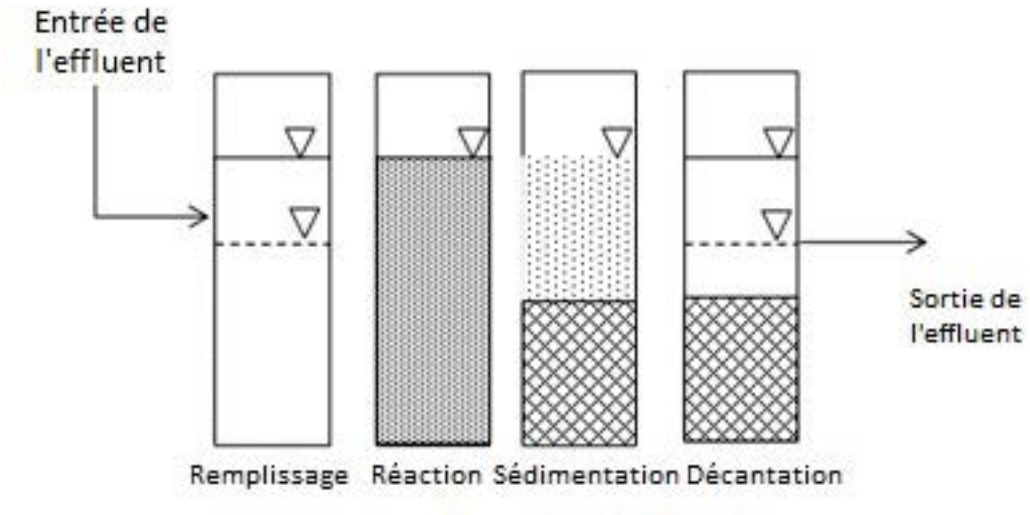


FIGURE 1.4.1 – Cycles pour une alimentation de type SBR (d'après (Hamilton, 2012))

1.4.2.3 Types de réacteur

La méthanisation s'opère généralement dans deux principaux types de réacteurs : les réacteurs parfaitement agités ou les réacteurs piston. Le type de réacteur choisi a une conséquence directe sur le type d'agitation qui est opéré à l'intérieur du réacteur, et sur les flux de matière et de chaleur.

1.4.2.4 Nombre de réacteurs

Enfin, la méthanisation est réalisable en une seule étape, dans un seul réacteur, ou en séparant l'hydrolyse et l'acidogénèse de l'acétogénèse et de la méthagénèse. Cette solution permet d'améliorer la digestion de certains déchets qui mèneraient à de faibles rendements en méthane avec l'utilisation des procédés classiques à une étape.

Chaque technologie possède des contraintes spécifiques, certaines étant présentées à titre d'illustration dans le tableau ci-dessous.

Table 1.4 – Contraintes liées à la technologie du méthaniseur

Technologie	Contraintes
Voie sèche, une étape, batch	Recirculation d'une partie de la phase aqueuse du digestat
Voie humide, une étape	Pré-traitement des déchets : alimentation du réacteur par une suspension solide dans eau

1.4.2.5 Temps de passage

Le temps de passage est exprimé dans le cadre de la méthanisation en continu, c'est-à-dire possédant en permanence une entrée et une sortie du milieu réactionnel, à un débit identique. Dans ce cas, le temps de passage τ est exprimé par :

$$\tau = \frac{V}{Q} \tag{1.4.1}$$

où V est le volume du milieu réactionnel en m^3 et Q le débit d'entrée et de sortie en $m^3.s^{-1}$.

Cette expression représente le temps moyen passé dans le réacteur par unité de volume ou de masse de substrat de méthanisation. Cette valeur est très variable et dépend des effluents à méthaniser. Classiquement, un temps d'un à deux mois est préconisé (Damiano, 2011; Rakotoniaina, 2012).

1.4.3 Paramètres microbiologiques

En anaérobiose, la production de microorganismes est faible : il est admis que seulement 5% de la demande chimique en oxygène est consommée pour ce processus.

Pour démarrer la méthanisation, il faut introduire dans le milieu réactionnel un inoculum, c'est-à-dire un apport initial de bactéries. Dans certains cas, comme par exemple la méthanisation du lisier bovin, il n'est pas nécessaire d'ajouter d'inoculum car cet effluent contient naturellement les bactéries nécessaires au processus de digestion anaérobie.

Par contre, pour d'autres substrats comme par exemple des déchets graisseux, il est nécessaire d'apporter des bactéries qui vont ensuite réaliser la méthanisation. Celles-ci

se développeront dans le milieu réactionnel, et le digestat en fin de méthanisation pourra être prélevé et utilisé en tant que substrat dans un autre réacteur.

Pour le développement de l'inoculum dans le milieu, il est conseillé de limiter les variations de température et de respecter les conditions classiques de méthanisation, c'est-à-dire une agitation efficace, une température compatible à la vie microbienne et un milieu sans lumière (Damiano, 2011).

1.4.4 Pré-traitement

Le pré-traitement consiste à effectuer des opérations sur les substrats en amont de la digestion anaérobie, généralement avant leur introduction dans le réacteur.

Les pré-traitements ont un impact significatif sur la méthanisation. Ils permettent dans certains cas de passer outre certaines restrictions de la digestion anaérobie, comme la digestion des molécules toxiques ou des substrats difficilement méthanisables comme les déchets solides ou les boues d'épuration (Moletta, 2011).

Les technologies mises en oeuvre sont de trois types : physiques, chimiques et biologiques (Bochmann et Montgomery, 2013).

Ces traitements consistent notamment à réduire la taille des composants organiques ou à les solubiliser (Bougrier *et al.*, 2006), ce qui a pour effet d'accélérer l'étape d'hydrolyse ; le temps de digestion s'en trouve diminué.

1.4.4.1 Pré-traitement mécanique

Le pré-traitement mécanique consiste d'une part à fragmenter l'effluent de méthanisation, afin d'augmenter le rendement de la réaction, et d'autre part à séparer le susbtrat méthanisable de la partie non méthanisable.

Fragmentation

Le broyage des éléments à méthaniser est utilisé principalement pour le pré-traitement des déchets biologiques, comme les effluents végétaux. Cependant, cette technologie a un coût important en énergie et en entretien des équipements. Selon les cas, il peut donc être économiquement judicieux ou non de mettre en place de tels procédés .

Le type de broyeur utilisé sera différent selon les déchets à traiter. Pour des denrées alimentaires, des broyeurs spéciaux à plaques perforées permettront à la fois la réduction du substrat en fines particules, mais favorisera également son homogénéisation (Blazy *et al.*, 2015).

Enfin, il est à noter que les matières biologiques se dégradent avec le temps dans le réacteur. Les opérations unitaires de mélange permettront de favoriser cette réduction de taille des particules (Le Bozec, 2011).

1.4.4.2 Pré-traitement physique

Les opérations unitaires de pré-traitement physique sont basées sur des technologies récentes.

Cavitation acoustique

La cavitation acoustique consiste en l'exposition des substrats de méthanisation aux ultrasons. Ceci provoque, en milieu aqueux, la formation de microbulles gazeuses, qui vont ensuite exploser. Ce phénomène développe une énergie importante évacuée sous forme de chaleur.

Lors de la cavitation acoustique, la réaction suivante se produit :

$$\mathrm{H_2O} \rightarrow {}^{\cdot}OH + H^{\cdot} \tag{1.4.2}$$

Les ultrasons provoquent la séparation de l'eau en deux espèces radicalaires :$^{\cdot}$H et $^{\cdot}$OH. Ce dernier a un caractère très oxydant : il va provoquer la lente dégradation des matières organiques. De plus, la pression est très élevée à l'interface gaz-liquide (Draye *et al.*, 2015; Bougrier *et al.*, 2006).

Ce type de pré-traitement pourra être mis en oeuvre sur des déchets possédant une cinétique lente de dégradation par la voie classique de la méthanisation.

Traitement thermique

Le traitement thermique est un procédé mis en oeuvre pour stériliser certains substrats avant la digestion anaérobie, comme les produits vétérinaires ou les structures

lignocellulosiques. Par exemple, les boues provenant des stations d'épuration peuvent être contaminés par *Legionella*. Ceci peut constituer une voie d'exposition non négligeable à la légionellose pour les personnes entrant en contact avec le méthaniseur (Charissou *et al.*, 2007).

D'une part, l'augmentation de la température provoque une hausse de la pression, ce qui a pour effet de détruire certains organismes microbiologique. D'autre part, l'hygrométrie est diminuée. Enfin, la viscosité et la filtrabilité du substrat sont modifiées. (Moletta, 2011).

La température optimale du traitement thermique est située entre 170 et 200°C (Bougrier *et al.*, 2006). Classiquement, l'augmentation de température est réalisée par convection, par l'intermédiaire d'échangeurs de chaleur ou d'autoclave à l'échelle du laboratoire. Cependant, ces techniques entrainent une consommation non négligeable d'énergie, et entraine une baisse non négligeable du rendement énergétique de la méthanisation. Une méthode alternative est de provoquer une augmentation de chaleur à l'aide d'un traitement par micro-ondes c'est-à-dire par l'intermédiaire d'ondes électromagnétiques. Enfin, l'injection de vapeur est préconisée à l'échelle industrielle (Moletta, 2011; Nordmann, 2014).

1.4.4.3 Pré-traitement chimique

Le pré-traitement chimique est variable selon le substrat à méthaniser. Il est notamment nécessaire pour modifier le pH, à l'aide d'acides ou de bases. Enfin, il peut être nécessaire d'éliminer des éléments non désirés à l'aide d'extractions à base de solvants.

Ozone

L'ozone a un pouvoir oxydant très puissant. Il réagit avec l'ensemble du substrat à méthaniser, qu'il s'agisse de matière organique, soluble ou particulaire. Des études ont montré que la concentration optimale d'ozone à consommer est située entre 0,05 et 0,5 gramme d'ozone par gramme de matière solide.

L'ozone permet en outre de réduire le taux d'hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dans le substrat de méthanisation : la biodégradabilité des HAP est augmentée grâce au pré-traitement par ozonation. Ceux-ci sont considérés comme des

polluants organiques, et leur teneur maximale est limitée dans les épandages : les concentrations maximales de fluoranthène, benzofluorenthène et benzopyrène sont respectivement de 4, 2.5 et 1.5 mg par kg de matière sèche. (Bernal-Martinez *et al.*, 2007; Besson et Moletta, 2010).

Enfin, l'ozone modifie la stabilité et la viscosité du substrat à méthaniser (Bougrier *et al.*, 2006).

1.4.5 Co-méthanisation ou co-digestion

La co-méthanisation consiste à méthaniser simultanément plusieurs substrats d'origines différentes.

Par exemple, il est intéressant d'utiliser, ensemble, des déchets issus de l'agriculture, avec d'autres provenant de l'industrie agro-alimentaire. Ceci permet de maintenir à la fois une production efficace de biogaz et la réutilisation du digestat comme engrais. Ce procédé est répandu dans le nord de l'Europe et se développe en France (Janis-Mazarguil, 2010).

Aussi, il a été démontré que la co-digestion simultanée de fumier de vache et d'ensilage d'herbe améliore l'efficacité du processus de méthanisation, dans des conditions opératoires strictes : le pH doit être maintenu entre 6,8 et 7,2, la composition en herbe dans le réacteur doit être inférieure à 40% et les taux d'ammoniac et d'acides gras volatils contrôlés (Adouani *et al.*, 2012).

Un projet vise enfin à la co-méthanisation d'algues, utilisées à des fins industrielles, avec des déchets agricoles. En plus de la production d'énergie sous forme d'électricité et de chaleur, la partie solide du digestat peut être utilisée sous forme de fertilisant agricole et l'éluant comme fongicide (Clicquot de Mentque, 2008).

1.4.6 Mesures de routine associées

De nombreux paramètres doivent être mesurés en routine pendant tout le processus de méthanisation, c'est-à-dire de manière fréquente et régulière. Ces paramètres sont présentés dans le tableau 1.5.

TABLE 1.5 – Mesures de routines à effectuer dans un méthaniseur (Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie Bourgogne, 2010; Damiano, 2011; Arnaud *et al.*, 2011)

Type de paramètre	**Paramètre**	**Remarques**
Physique	Débit d'alimentation	Applicable pour la méthanisation en continu
	Température	
	pH	Un pH acide inhibe le développement des bactéries méthanogènes
	Conductivité	
Chimique	Titre alcalimétrique complet (TAC)	
	Taux de matière sèche à l'entrée	
	Taux de matière volatile à l'entrée	
	Taux de matière sèche à la sortie	
	Taux de matière volatile à la sortie	
	Volume de biogaz produit	Mesure du débit en sortie si la méthanisation est continue
	Composition du biogaz produit	Mesure de la composition en CH4, CO2 et H2S au minimum
	Teneur en ammoniac	Si trop élevée, celle-ci inhibe la croissance bactérienne
	Teneur en acides gras volatils	Elevée en début de méthanisation
	Titre alcalimétrique complet (TAC)	Représente le pouvoir tampon du milieu réactionnel
	AGV / TAC	Rapport fréquemment utilisé comme indicateur de fonctionnement
	Rapport Carbone/Azote	Représente l'efficacité de dégradation des molécules organiques
	Rapport DCO / Azote / Phosphore	

1.5 Devenir du biogaz et du digestat

1.5.1 Composition du biogaz

Le biogaz résultant de la méthanisation est généralement composé de :

— 50 à 75 % de méthane (CH_4)
— 25 à 50 % de dioxyde de carbone (CO_2)
— 2 à 7 % de vapeur d'eau (H_2O)
— 0 à 5 % d'autres composés, principalement H_2, N_2, O_2 et H_2S (Lejeune, 2008; Banks, 2011; Moletta, 2011; Bova, 2012)

La composition varie selon la nature du déchet méthanisé, et selon les conditions opératoires. Par exemple, un pH basique favorisera la formation de méthane tandis que la production de dihydrogène sera privilégiée à pH acide (Bova, 2012).

La composition du biogaz peut être déterminée de manière théorique grâce à l'équation de Buswell, établie en 1952. Celle-ci permet de calculer approximativement les produits gazeux de la digestion anaérobie de la matière organique, cette dernière étant généralisée sous la forme CcHhOoNnSs.

Cependant, l'équation de Buswell effectue une approximation majeure ; elle considère que toute la matière organique est transformée en biogaz. Elle peut donc être utilisé pour connaître les fractions molaires des différents constituants du biogaz obtenu, mais pas directement pour déterminer leur volume. Pour ce dernier point, il faut connaître la fraction de matière organique qui sera convertie en biogaz. Cette dernière donnée est relative à l'effluent qui est méthanisé.

L'équation de Buswell s'écrit de la manière suivante Banks (2011) :

$$\begin{gathered}\mathrm{C_cH_hO_oN_nS_s} + (1/4)(4c - h - 2o + 3n + 2s)\mathrm{H_2O} -> \\ (1/8)(4c - h + 2o + 3n + 2s)\mathrm{CO_2} + (1/8)(4c + h - 2o - 3n - 2s)\mathrm{CH_4} + \mathrm{nNH_3} + \mathrm{sH_2S}\end{gathered} \tag{1.5.1}$$

1.5.2 Valorisation du biogaz

Une fois que le biogaz aura été produit par méthanisation, il sera nécessaire de le valoriser économiquement. Ainsi, il existe principalement quatre usages.

1.5.2.1 Production de chaleur

La première utilisation du biogaz est sa combustion dans l'objectif de produire de la chaleur. L'avantage de ce procédé est son rendement important. Il existe deux options : soit la combustion du biogaz est réalisée au niveau du site de méthanisation, soit ce

traitement sera effectué sur un site différent. Cependant, le transport est onéreux, tant pour la chaleur que pour le gaz (Bastide, 2014).

Dans les conditions standards de température et de pression, chaque mètre cube de biogaz peut produire environ 22 MJ d'énergie, tandis qu'une même quantité de méthane produit classiquement 36 MJ d'énergie (Banks, 2011).

La chaleur produite pourra être utilisée pour alimenter des circuits d'eau chaude, et ainsi chauffer le méthaniseur ou d'autres installations, ou dans l'utilisation d'un cycle de Rankine pour une production secondaire d'électricité.

1.5.2.2 Production d'électricité

Le cycle de Rankine consiste à chauffer de l'eau initialement à l'état de liquide jusqu'à vaporisation complète. Ensuite, une turbine permet de détendre ce fluide c'est-à-dire de diminuer sa pression à température constante, ce qui a pour effet de produire de l'électricité grâce à un alternateur. Le fluide passe ensuite dans un condensateur où sa pression diminue. Après refroidissement éventuel, il repasse alors à l'état liquide (Marchandise, 2014).

Le biogaz est également utilisé pour produire de l'électricité. Etant donné le nombre supérieur d'opérations nécessaires, bien que le rendement énergétique soit moins important que la production de chaleur, le transport de l'électricité est bien moins onéreux que le transport de la chaleur ou du gaz (Bastide, 2014).

1.5.2.3 Cogénération

La cogénération est une alternative aux deux utilisations exposées ci-dessus. Elle permet de produire à la fois de l'électricité et de la chaleur. Cette méthode permet un rendement en électricité plus élevé que la production électrique seule. Cependant, le biogaz doit d'abord subir des opérations de pré-traitement, en particulier la déshumidification et la désulfuration. Préalablement pressurisé, il subira ensuite une combustion. Cette opération permettra de produire de l'électricité à l'aide d'un alternateur. Des échangeurs de chaleur au niveau de ce dernier permettront de récupérer de la chaleur. Celle-ci pourra être utilisée pour chauffer de l'eau, tandis que l'électricité sera revendue à l'entreprise exploitant le réseau de distribution. Il s'agit d'un procédé très utilisé dans le domaine de la production d'énergie (Steenhaut, 2006; Bova, 2012).

Le rendement global est d'environ 85%, dont 50% en chaleur et 35% en électricité (Banks, 2011).

1.5.2.4 Injection dans les réseaux urbains de gaz

Il s'agit de la méthode de valorisation la plus intéressante au niveau économique. Cependant, le gaz injecté devra préalablement être purifié, selon les méthodes décrites ci-dessous (partie 1.5.4).

L'injection du biogaz dans les réseaux de gaz est pratiquée notamment en Allemagne et en Suisse. Des projets sont en cours en France (Bastide, 2014).

1.5.3 Equivalence énergétique de la méthanisation

Dans ce paragraphe sont présentés des valeurs qui permettent d'évaluer la production d'énergie à l'aide du processus de méthanisation par rapport à d'autres technologies.

Il est à noter que l'effluent de méthanisation peut être converti jusqu'à 75% en biogaz.

Table 1.6 – Equivalence énergétique de la méthanisation (Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie Bourgogne, 2010; Moletta, 2011)

		1 mètre cube de lisier		
		↓		
26 kg de charbon	⟷	25 mètres cube de biogaz	⟷	20 L de mazout
23 L de gazoil		↓		42 kg de bois
		Jusqu'à 20 mètres cube de méthane		
		↓		
		Pouvoir calorifique de 150 kWh par kilogramme		

1.5.4 Purification et devenir des produits de la méthanisation

1.5.4.1 Elements éliminés du biogaz et du digestat

Le digestat obtenu après méthanisation est composé de matière organique et minérale. Selon la taille du digesteur, la quantité de digestat obtenue est souvent très importante. Pour faciliter l'utilisation ultérieure du produit, et notamment son stockage et transport, il est nécessaire d'éliminer les éléments non désirés et de concentrer les éléments valorisables tant au niveau du digestat que du biogaz. En particulier, certains éléments comme le soufre, l'ammoniac ou les composés halogénés peuvent provoquer la corrosion des équipements. (Lejeune, 2008; Ingremeau, 2013).

Les éléments à éliminer sont :

- L'eau : par condensation et opérations de séchage
- Le gaz carbonique : par lavage à l'eau ou au polyéthylène glycol, par tamisage moléculaire au carbone, par séparation membranaire classique à haute pression et gaz-liquide sur membrane.
- L'hydrogène sulfuré : par désulfuration biologique, par réaction avec le fer à l'aide de charbon actif
- Les dérivés halogénés
- Le silicium, retrouvé dans les effluents à base d'ordures ménagères et de boues urbaines (Lejeune, 2008; Moletta, 2011)

1.5.4.2 Traitement du digestat

Généralement, une séparation liquide-solide est réalisée sur le digestat. Ceci est principalement effectué par opération de pressage. Cette opération est possible si le milieu à traiter est compressible, c'est-à-dire si le volume de ce milieu est réductible sous l'action d'une augmentation de la pression. La porosité est le paramètre influençant principalement la compressibilité (Pinault, 1836). Par définition, « l'opération de pressage consiste à comprimer le milieu humide dans une chambre au moyen d'un piston, le frettage latéral provoquant une déformation unidimensionnelle et donc le drainage. » (Baluais, 1997).

La technologie de presse à vis est utilisée, depuis récemment, pour séparer les phases du digestat. Le gâteau à filtrer est introduit dans la presse, et son avancement, de type piston, est effectué par une vis à rotation lente. Cette vis réalise aussi la presse

du produit. Les techniques classiques de filtrage incluent le filtre presse, qui est constitué d'une succession de toiles filtrantes maintenues fermement grâce à l'exercice d'une pression. Le gâteau à filtrer traverse ces toiles et est récupéré en continu en sortie du procédé (Dor, 2011).

Les deux phases subiront un épandage, puis la phase solide sera séchée et compostée. La phase liquide sera filtrée et utilisée comme fertilisant. La phase solide sera utilisée comme amendant (Bastide, 2014).

1.5.4.3 Traitement du biogaz

Le traitement du biogaz permet principalement de purifier ce dernier, afin d'injecter le méthane dans un réseau de distribution de gaz.

Des opérations de lavage à la soude ou d'adsorption sur charbon actif permettent de retirer le souffre (Lejeune, 2008).

Le dioxyde de carbone est séparé par lavage à l'eau sous pression ou aux amines, ou par perméation membranaire (Loc, 2012).

Chapitre 2

Antibiotiques utilisés dans l'élevage bovin

2.1 Introduction

Environ 80% des 16000 tonnes d'antibiotiques vendues annuellement aux Etats-Unis sont destinées à un usage vétérinaire. En France, en 2014, 781.5 tonnes d'antibiotiques à usage vétérinaire ont été vendus (Moulin et Chevance, 2015). Une grande partie des antibiotiques absorbés par les animaux est éliminée sans transformation ou sous forme de sous-produits.

En particulier, avant sa digestion, le lisier subit d'autres opérations de pré-traitement dont certaines ont été exposées plus haut et peut être stocké pendant un temps non négligeable. Il peut en effet rester plusieurs semaines dans une fosse. Ainsi, durant cette période, il est possible que les antibiotiques résiduels présents dans le milieu diminuent le potentiel de méthanisation de ce dernier (Mitchell *et al.*, 2013) :

— Les antibiotiques peuvent éliminer une partie des bactéries, dont certaines espèces en particulier. Ceci peut avoir pour conséquence la favorisation de certaines étapes de la méthanisation au détriment des autres. Par exemple, les bactéries de type *Methanothrix* ont principalement une activité dans l'étape de méthanogénèse : un déséquilibre bactériologique est susceptible de s'installer.

— Etant donné la complexité du milieu réactionnel et la variété des molécules qui peuvent s'y trouver (par exemple dans des boues urbaines), les antibiotiques peuvent être dégradés et transformés en sous-produits inhibiteurs de la méthanisation.

Dans le cas de la méthanisation à la ferme, et plus particulièrement du lisier bovin, l'impact des antibiotiques commence par l'étude des molécules autorisées à l'usage de ces animaux.

.

2.2 Liste des antibiotiques utilisés en France chez les bovins

Ci-dessous est présentée la liste des antibiotiques autorisés à l'usage des bovins en France en 2015. Les principales molécules seront ensuite détaillées.

Table 2.1 – Antibiotiques autorisés pour la production de nourriture d'origine bovine en France (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Famille	**Molécule**
Beta-lactamines	Ampicilline/Amoxicilline
	Amoxycilline + acide clavulanique
Aminosides	Streptomycine
	Neomycine
	Gentamycine
	Apramycine
	Framycetine
Tetracyclines	Oxy/Chlor/Tetracycline
	Doxycycline
Macrolides	Tylosine/Spira-/Erythromycine
Polypeptides	Polymyxine B/Colistine
Sulfamidés	Trimethoprime
	Trimethoprime + Sulphonamide
	Baquiloprime + Sulphonamide
Quinolones	Flumequine
	Acide oxolinique
Fluoroquinolones	Enrofloxacine
	Marbofloxacine

2.3 Les beta lactamines

2.3.1 Présentation de la famille

2.3.1.1 Structure chimique

Les beta-lactamines sont des molécules ayant comme structure commune un cycle beta-lactame (Dubée, 2014).

Table 2.2 – Classification des beta-lactamines

Classification des bêta-lactamines
Pénicilline G et V
Pénicillines M semi-synthétiques
Pénicillines A
Carboxypénicillines, Uréidopénicillines
Céphalosporines de 1ère génération
Céphalosporines de 2ème génération
Céphalosporines de 3ème et 4ème génération
Monobactames
Carbapénèmes
Inhibiteurs des bêtalactamases

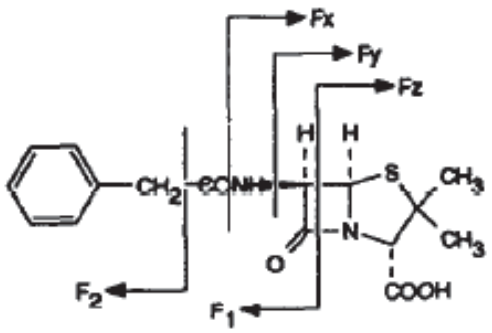


Figure 2.3.1 – Péniciline G

2.3.1.2 Mécanisme d'action

Les beta-lactamines agissent en bloquant la synthèse du peptidoglycane au niveau de la membrane bactérienne. Ce dernier y possède un rôle essentiel : il maintient la forme des cellules et empêche la cellule d'éclater en raison de la forte pression osmotique intra-cytoplasmique.

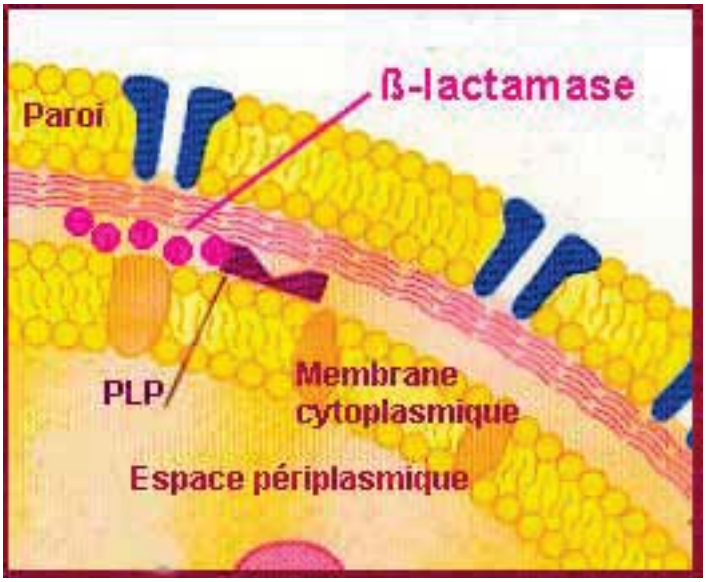


FIGURE 2.3.2 – Mécanisme d'action des beta-lactamines (Philippon, 2014)

Le peptidoglycane est composé de chaines glycanes, reliées par de courts peptides. Plus précisément, il y a alternance entre N-acétylglucosamine (NAG) et acide N-acétylmuranique (NAM). Sur ce dernier est ajouté une chaine peptidique, le pentapeptide. Le motif primaire est donc l'ensemble NAG-NAM-pentapeptide. Cet assemblage est réalisé par les glycosyltransférases.

Le troisième résidu du pentapeptide est lié avec le 4ème résidu d'un autre pentapeptide par un pont interpeptidique ou directement. Cette opération est réalisée par les transpeptidases. L'activité de ces dernières est régulée par les carboxypeptidases.

Au final, tout ceci forme une sorte de filet autour du côté externe de la membrane cytoplasmique (Vollmer, 2015) : le saccule. Celui-ci est la cible de nombreux antibiotiques (de Pedro, 2009) : les bêta-lactamines ont une action d'inhibition des transpeptides et des carboxypeptidases (Pacanowski, 2007).

La pénétration dans la paroi des bactéries est facilitée pour les bactéries Gram positif. En effet, le peptidoglycane est perméable au passage de ces antibiotiques. Au

contraire, pour pénétrer dans les bactéries Gram négatif, des protéines de transport, les porines, sont nécessaires.

Les résistances aux pénicilines sont courantes. Le plus souvent, des molécules de type beta-lactamase provoquent une hydrolyse du cycle beta-lactame et donc la destruction des molécules d'antibiotique. C'est pourquoi les penicilines peuvent être associées à des inhibiteurs des beta-lactamases. Cependant, le spectre d'activité des beta-lactamines reste l'un des plus étendus.

Sur le cycle beta-lactame, un groupement est spécifique à chaque antibiotique, et définit son action et son absorption par l'organisme (Bernier, 2008).

2.3.2 Médicaments à base d'ampicilline

L'ampicilline est une aminopénicilline (pénicilline de groupe A). Cette classe de beta-lactamines possède un spectre de type Gram négatif plus important que les premières pénicilines. Comme les pénicillines G, leur spectre Gram positif est efficace contre les enterocoques, les streptocoques et *Listeria*.

Table 2.3 – Liste des médicaments sur le marché contenant de l'ampicilline destinés aux bovins (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Allegrocine	Intervet	Suspension injectable	ampicilline, colistine, dexaméthasone
Ampiclox	Zeotis France	Suspension intramammaire	ampicilline, cloxacilline
Ampicoline	Qalian	Suspension injectable	ampicilline, colistine
Ampidexalone	Merial	Suspension injectable	ampicilline, colistine, dexaméthasone
Ampiject 10 G	Merial	Poudre pour sol. injectable	ampicilline
Ampimycine dex	Ceva Sante Animale	Suspension injectable	ampicilline, colistine, dexaméthasone
Bigental	Intervet	Suspension injectable	ampicilline, gentamicine
Colampi I	Laboratoires Biove	Suspension injectable	ampicilline, colistine
Colicilline	Virbac	Suspension injectable	ampicilline, colistine
Multibio	Virbac	Suspension injectable	ampicilline, colistine, dexaméthasone
Sodibio	Laboratoire Biard	Suspension injectable	ampicilline, colistine, dexaméthasone

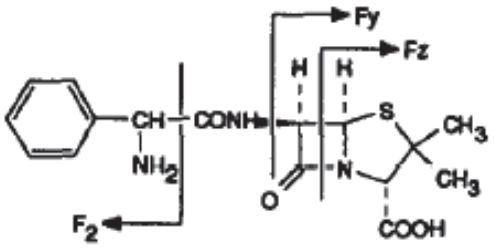


Figure 2.3.3 – Ampicilline

2.3.2.1 Ampiciline et colistine

Les spécialités Ampicoline, Colampi I et Colicilline contiennent de l'ampicilline et de la colistine.

La colistine est une polymixine E. Elle a une action sélective contre les bactéries Gram négatif. Elle rompt la membrane cytoplasmique bactérienne en altérant la perméabilité de la membrane externe. La résistance à la colistine est peu commune (Nasnas *et al.*, 2009).

Ces médicaments sont indiqués pour le traitement des septicémies, des infections digestives, des infections respiratoires et des infections génito-urinaires dues à des germes sensibles à l'ampicilline et à la colistine.

La voie d'administration est intramusculaire, intrapéritonéale ou sous-cutanée. La posologie est de 10 mg d'ampicilline et 25 000 UI de colistine par kg de poids vif toutes les 12 heures pendant 3 jours.

2.3.2.2 Ampiciline, colistine et dexaméthasone

Allegrocine, Ampidexalone, Ampimycine dex, Multibio et Sodibio contiennent comme substance active l'ampicilline, la colistine et la dexaméthasone.

La dexaméthasone est un anti-inflammatoire stéroïdien qui appartient au groupe des glucocorticoïdes. L'effet anti-inflammatoire est dû à la synthèse de lypocortine 1 ou 2 qui inhibite la phospholipase A2, et à l'inhibition de la lipoxygénase et de la cyclooxygénase, ce qui a pour effet de bloquer la synthèse de médiateurs de l'inflammation (prostaglandines et leucotriènes).

La dexaméthasone est très utilisée dans le domaine vétérinaire pour traiter les désordres métaboliques et inflammatoires chez les bovins (Maślanka *et al.*, 2013). Les indications sont les mêmes qu'énoncées précédemment. A cause de la présence de cortocoïdes, l'administration dans le dernier tiers de la gestation est exclue.

Table 2.4 – Posologie des médicaments à base d'ampicilline, colistine et dexaméthasone (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	Posologie
Allegrocine	10 mg d'ampicilline, 25 000 UI de colistine, 0.05 mg de dexaméthasone par kg de poids vif toutes les 12h pendant 3 jours
Ampidexalone	8.7 mg d'ampicilline, 25 000 UI de colistine, 0.025 mg de dexaméthasone par kg de poids vif toutes les 12 heures pendant 3 jours
Ampimycine dex	10 mg d'ampicilline, 25 000 UI de colistine, 0.025 mg de dexaméthasone par kg de poids vif toutes les 12 heures pendant 3 jours
Multibio	10 mg d'ampicilline et 25 000 UI de colistine et 0.023 mg de dexaméthasone par kg de poids vif toutes les 12 heures pendant 3 jours
Sodibio	10 mg d'ampicilline et 25 000 UI de colistine et 0.226 mg de dexaméthasone par kg de poids vif toutes les 12 heures pendant 3 jours

2.3.2.3 Ampicilline et cloxacilline

Certaines spécialités, en particulier Ampiclox, contiennent comme principes actifs de l'ampicilline et de la cloxacilline, une pénicilline M. Ce médicament est commercialisé sous forme de suspension intrammamaire (Reverdy *et al.*, 1996).

Cette association est indiquée pour traiter les affections à bactérie sensible à l'ampicilline et à la cloxacilline. De plus, chez les vaches en lactation, elle est utilisée pour le traitement des mammites cliniques à *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Escherichia coli*.

La posologie est de 200 mg de cloxacilline et 75 mg d'ampicilline toutes les 12 ou 24 heures, par quartier infecté. Le traitement complet est de trois applications.

2.3.3 Médicaments à base d'amoxicilline

Comme représenté ci-dessous, l'amoxicilline possède un cycle thiazolidine lié au cycle beta-lactame. Elle est composée de trois groupements ionisables :

— Un groupement amine primaire (R-NH_2)

— Un groupement carboxyle (R-COOH)
— Un groupement hydroxyle (R-OH) (Bernier, 2008)

Table 2.5 – Médicaments sur le marché contenant de l'amoxicilline (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Clamoxyl LA	Zoetis France	Suspension Injectable	Amoxicilline
Clamoxyl Oblet Gynecologique	Zoetis France	Comprimé Intra-Utérin	
Clamoxyl Suspension	Zoetis France	Suspension Injectable	
Cofamox 15 L.A.	Merial		
Duphamox La	Zoetis France		
Longamox	Vetoquinol		
Suramox 15 % La	Virbac		
Vetrimoxin 48 Heures	Ceva Sante Animale		
Noroclav Injectable	Norbrook Laboratories		Amoxicilline + Acide Clavulanique
Synulox Suspension	Zoetis France		
Synulox Intramammaire	Zoetis France	Suspension Intramammaire	Amoxicilline + Acide Clavulanique + Prednisolone

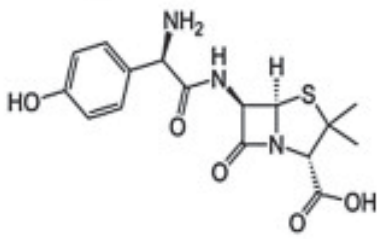


Figure 2.3.4 – Structure de l'amoxicilline (Karimian *et al.*, 2015)

2.3.3.1 Amoxicilline seule

L'amoxicilline est retrouvée comme seule substance active dans certaines spécialités à l'usage des bovins. Dans le cas des suspensions injectables, et au regard du large

spectre d'action de cet antibiotique, celui-ci est, de manière très générale, indiqué en traitement des infections sensibles à cette molécule. De manière plus précise, cette substance est préconisée contre les infections respiratoires à bactéries à Gram positif et dues à *Pasteurella multocida* ou *Mannheimia haemolytica*, ainsi que les infections digestives causées par des enterobactéries.

Les précautions d'emploi rappellent la nécessité d'un usage raisonné pour éviter l'apparition de nouvelles résistances.

L'amoxicilline seule est également retrouvée sous forme de comprimé intra-utérin. Dans ce cas, elle est indiquée en traitement des infections du post-partum, en cas de rétention placentaire ou de métrites post-partum.

2.3.3.2 Amoxicilline et acide clavulanique

L'association amoxicilline et acide clavulanique est préconisée dans les mêmes indications que l'amoxicilline seule. L'acide clavulanique permet de diminuer la résistance des bactéries envers l'amoxicilline, par une action d'inhibition des beta-lactamase.

2.3.3.3 Amoxicilline, acide clavulanique et prednisolone

Cette dernière association contient en plus des spécialités précédentes de la prednisolone. Il s'agit d'un corticoïde, appartenant aux anti-inflammatoires stéroïdiens.

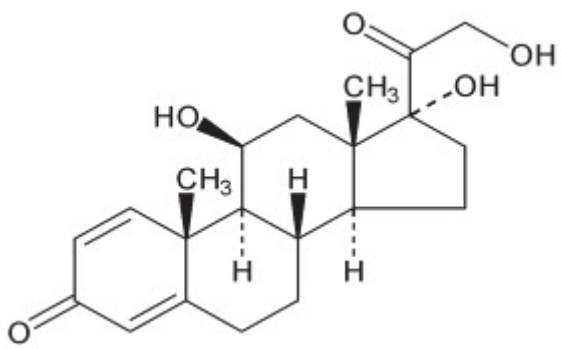


FIGURE 2.3.5 – Structure de la prednisolone (Chen *et al.*, 2009)

Il s'agit d'une forme pharmaceutique de type suspension intramammaire. Elle est indiquée chez les bovins, et plus particulièrement chez les vaches en lactation qui présentent des mammites causées par certains pathogènes :

— *Staphylocoques spp.*
— *Streptocoques spp.*
— *Escherichia coli*

Grâce à la présence de l'acide clavulanique, cette spécialité est administrable pour traiter des infections dues à ces bactéries.

Des expériences *in vitro* ont montré que l'association amoxicilline et prednisolone permettait de traiter plus efficacement les infections aux bactéries exposées ci-dessus, pouvant causer des mammites (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015).

Table 2.6 – Liste des médicaments sur le marché contenant de l'amoxicilline destinés aux bovins (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Clamoxyl LA	Zoetis France	Suspension injectable	Amoxicilline
Clamoxyl Oblet Gynécologique		Comprimé intra-utérin	
Clamoxyl Suspension		Suspension injectable	
Cofamox 15 L.A.	Merial		
Duphamox LA	Zoetis France		
Longamox	Vetoquinol		
Suramox 15 % LA	Virbac		
Vetrimoxin 48 Heures	Ceva Santé Animale		
Noroclav Injectable	Norbrook Laboratories		Amoxicilline + Acide clavulanique
Synulox Suspension	Zoetis France		
Synulox Intramammaire		Suspension intramammaire	Amoxicilline + Acide clavulanique + Prednisolone

Table 2.7 – Posologie des médicaments à base d'amoxicilline (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	**Posologie**
Clamoxyl LA	2 injections intra-musculaires de 15 mg d'amoxicilline par kg de poids vif, en respectant un intervalle de 48 heures
Clamoxyl Oblet Gynécologique	1 comprimé intra-utérin
Clamoxyl Suspension	7 mg d'amoxicilline par kg de poids vif une fois par jour pendant 3 à 5 jours
Cofamox 15 L.A.	2 injections intra-musculaires de 15 mg d'amoxicilline par kg de poids vif, en respectant un intervalle de 48 heures
Duphamox LA	
Longamox	
Noroclav Injectable	7 mg d'amoxicilline et 1,75 mg d'acide clavulanique par kg de poids vif pendant 3 à 5 jours
Suramox 15 % LA	2 injections intra-musculaires de 15 mg d'amoxicilline par kg de poids vif, en respectant un intervalle de 48 heures
Synulox Intramammaire	Infuser une seringue par quartier infecté après trois traites consécutives
Synulox Suspension	7 mg d'amoxicilline et 1,75 mg d'acide clavulanique par kg de poids vif pendant 3 à 5 jours
Vetrimoxin 48 Heures	2 injections intra-musculaires de 15 mg d'amoxicilline par kg de poids vif, en respectant un intervalle de 48 heures

2.4 Les macrolides

2.4.1 Présentation de la classe

2.4.1.1 Action des macrolides

Les macrolides sont des antibiotiques utilisés quotidiennement dans les prescriptions de ville. Ils sont caractérisés par un cycle lactonique réuni à des oses, substitué par des hydroxyles, des groupements alkyles et une fonction basique.

Les macrolides inscrits à la Pharmacopée française sont la spiramycine, l'érythromycine et la troléandomycine. Leur spectre est large, bien qu'excluant une grande partie des bactéries à Gram négatif.

Leur mécanisme d'action est l'inhibition de la synthèse protéique des bactéries,

par fixation sur la sous-unité 50S des ribosomes et l'inhibition de l'action de la peptidyl-transférase. Ils sont principalement bactériostatiques. (Vaubourdolle, 2007).

Dans la médecine Humaine, les macrolides sont très largement utilisés pour le traitement d'infections du tractus respiratoire (Zhou *et al.*, 2015).

2.4.2 Médicaments à base de tylosine

L'érythromycine a été découverte en 1952. Elle est restée, jusqu'à récemment, le seul macrolide utilisé en usage courant (Avenel-Audran, 2008).

La tylosine fait partie des macrolides. Elle est très utilisée dans le domaine vétérinaire, en tant qu'antibactérien, entrainer une augmentation de poids et favoriser l'assimilation des aliments. Elle est peu hydrophile et très soluble dans les solvants organiques (Boyadzhiev *et al.*, 2003). Sa structure chimique est représentée figure 2.4.1.

Elle est commercialisée sous les spécialités suivantes à destination des bovins (Medcom, 2014) :

— PHARMASIN© 200 mg/mL, solution injectable (laboratoires Huvepharma®)
— TYLAN© 200, solution injectable 200 mg/mL (laboratoires Elancon®)
— TYLAXEN© 200 mg/mL, solution injectable (laboratoires Virbac®)

Ces trois spécialités sont indiquées pour le traitement des infections respiratoires, des métrites à bactéries à Gram+, des mammites à *Streptococcus spp*, S*taphylococcus spp.* ou *Mycoplasma* et de la nécrobacillose interdigitale et des panaris interdigités. La posologie journalière est de 5 à 10 mg de tylosine par kilogramme, pendant 3 jours.

Le temps d'attente avant consommation de la viande est de 28 jours. Il est de 4 jours et demi pour le lait. Les effets indésirables sont très rares (gonflement vulvaire) et il n'y a pas de conséquences connues à un surdosage (Medcom, 2014).

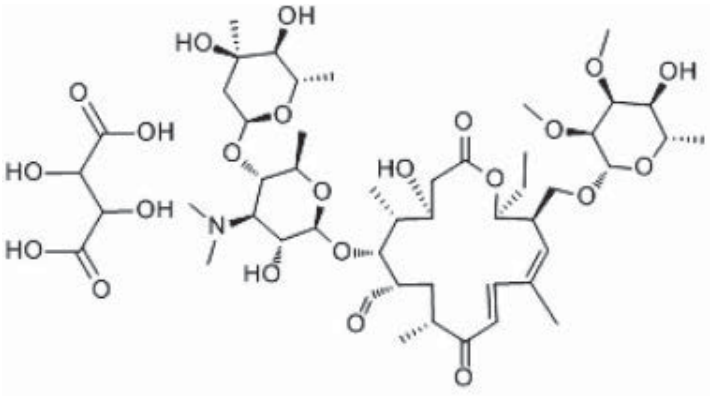


FIGURE 2.4.1 – Structure chimique de la tylosine(Shen *et al.*, 2015)

2.5 Les tetracyclines

2.5.1 Présentation de la classe

2.5.1.1 Structure chimique et classification

Les tetracyclines ont un spectre d'activité large : ils sont actifs contre les bactéries à Gram positif, à Gram-négatif, *Chlamydia*, les mycoplasmes, les rickettsies et certains protozoaires.

Les tetracyclines sont composées d'un noyau tétracyclique de type naphtalène-carboxamide.

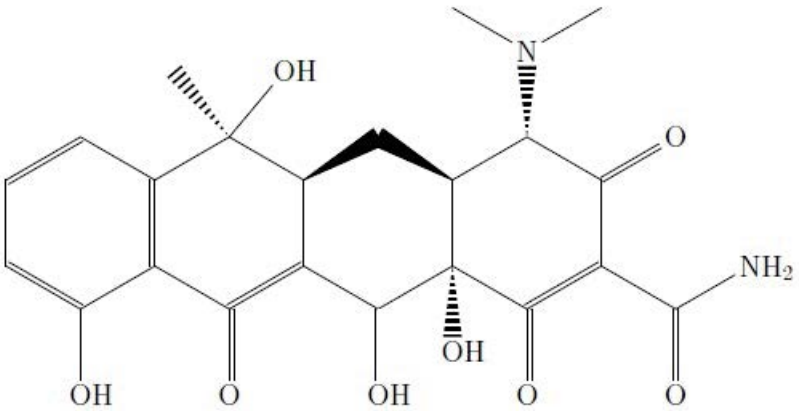


FIGURE 2.5.1 – Tetracycline

2.5.1.2 Action des tetracyclines

Le mode d'action est l'inhibition de la synthèse protéique en empêchant la fixation de l'aminoacyl-ARNt au site accepteur (A) du ribosome.

Ils sont très utilisés, autant dans la médecine Humaine qu'animale, grâce à leur efficacité d'action et à l'absence d'effets secondaires majeurs. Aux Etats-Unis, les tetracyclines sont utilisés comme promoteurs de croissance dans le domaine vétérinaire. Cet usage est controversé car il favorise l'apparition de résistances bactériennes.

Il a été démontré que les résidus suivants sont retrouvés dans le lait des bovins : la tetracycline, l'oxytetracycline et la chlortetracycline (Wang *et al.*, 2007).

2.5.2 Médicaments à base de tetracyclines

2.5.2.1 Tetracycline

Table 2.8 – Médicaments sur le marché contenant de la tetracycline (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Mastijet	Intervet	Suspension Intramammaire	Bacitracine, Néomycine, Prednisolone, Tétracycline
Panadia	Virbac	Solution Injectable	Procaïne, Tétracycline
Panafuge	Intervet	Solution Injectable	Dihydrostreptomycine, Tétracycline

Table 2.9 – Posologie des médicaments à base de tetracycline (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	Posologie
Mastijet	184,8 mg de tétracycline, 250 mg de néomycine, 2000 UI de bacitracine et 10 mg de prednisolone par quartier infecté toutes les 12 heures, pendant 4 traites consécutives
Panadia	1 administration intramusculaire de 5 mg de tétracycline par kg de poids vif
Panafuge	1 administration intramusculaire de 1 g de tétracycline et 5 g de dihydrostreptomycine pour 100 kg de poids vif

Bacitracine, Néomycine, Prednisolone, Tétracycline

Tout d'abord, la tetracycline peut être associée à la bacitracine, la néomycine et la prednisolone. La bacitracine et la néomycine ont une action bactéricide tandis que la tetracycline a une action bactériostatique. Il s'agit d'une suspension intramamaire.

Cette association est préconisée pour le traitement des mammites sensibles à ces trois antibiotiques, chez les bovins en lactation. Il peut s'agir de bactéries telles que :

— *Staphylococcus aureus*
— *Streptococcus dysgalactiae*
— *Streptococcus uberis*
— *Escherichia coli*

La prednisolone apporte un effet anti-inflammatoire et renforce l'action des trois autres substances.

Tetracycline et procaïne

La procaine appartient à la famille des amino-ester. C'est un anesthésique local. Cette association est indiquée pour le traitement des germes sensibles à la tétracycline tel que le traitement du panaris interdigité. (*Fusobacterium necrophorum* et *Bacteroïdes melaninogenicus*). Il n'existe pas d'effets secondaires graves.

Tetracycline et dihydrostreptomycine

Comme précédemment, cette association est indiquée pour traiter le panaris interdigité. La dihydrostreptomycine a une action bactéricide contre les bactéries à Gram

négatif. Ces deux antibiotiques agissent en synergie. Il n'existe aucun effet indésirable connu concernant cette spécialité.

2.6 Les polypeptides

2.6.1 Présentation de la classe

2.6.1.1 Structure

Les polypeptides sont des antibiotiques dont la structure est composée d'un enchaînement d'acides aminés.

2.6.1.2 Action

Les antibiotiques polypeptidiques ont un spectre d'activité étroit et limité aux bactéries à Gram négatif. En effet, leur action se situe sur la membrane externe de la paroi des bactéries, au niveau des phospholipides. Les composants intracellulaires sortent de la cellule, ce qui provoque sa lyse (figure 2.6.1).

Les polypeptides sont nephrotoxiques et neurotoxiques s'ils sont administrés à forte dose (Pebret, 2003).

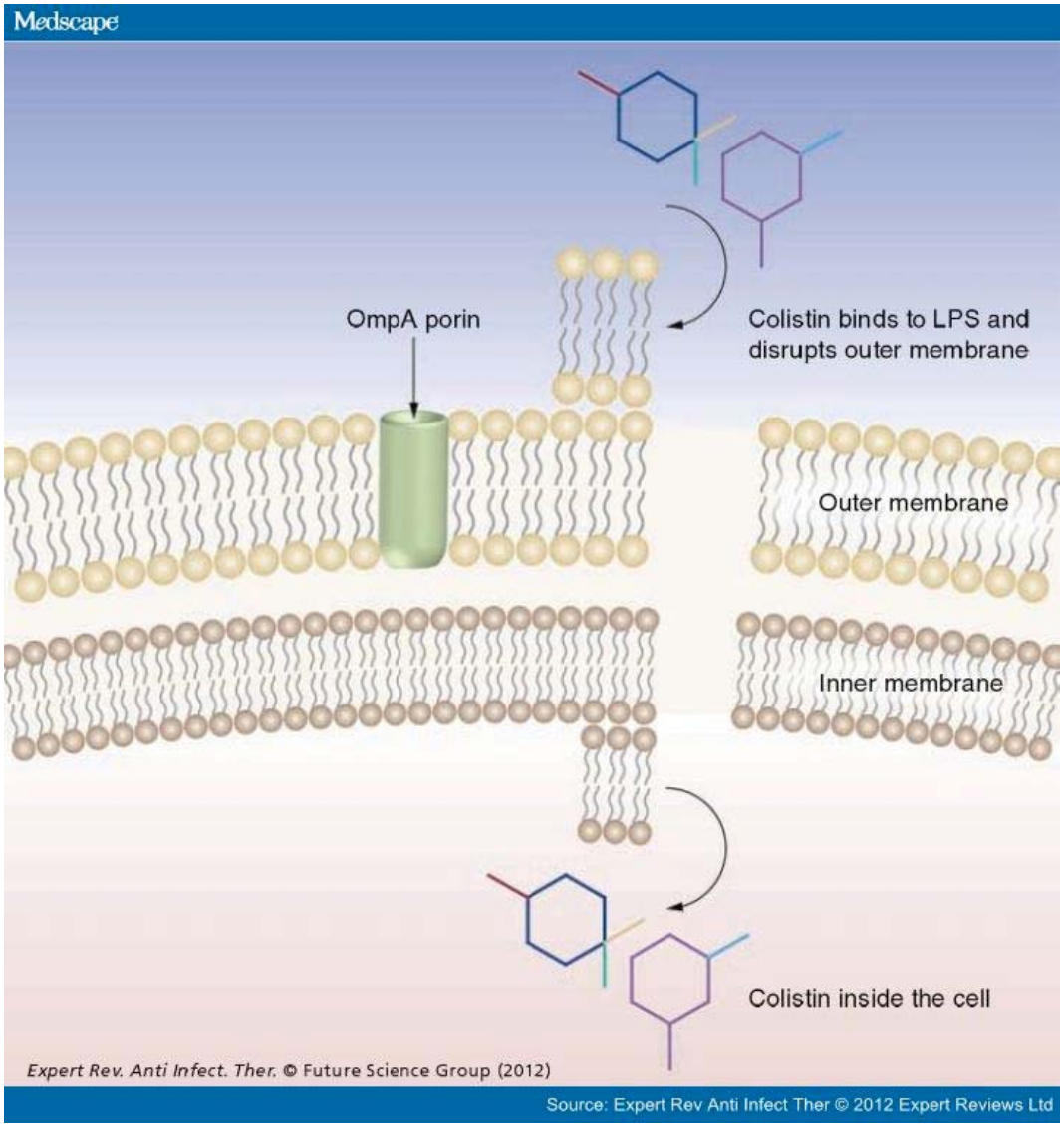


FIGURE 2.6.1 – Mode d'action des polypeptides (Biswas *et al.*, 2012)

2.6.2 Médicaments à base de colistine

La colistine est un antibiotique appartenant aux polypeptides. Plus précisément, elle appartient aux polymyxines du groupe E. Il existe plus de trente composés. Les principaux sont la colistine A et la colistine B, respectivement appelés Polymyxine E1 et E2.

La colistine possède un spectre étroit. Cette molécule est active seulement sur quelques bactéries à Gram négatif. Elle ne possède pas d'effet sur les cocci à Gram positif et négatif, les bacilles à Gram positif, la plupart des bactéries anaérobies et les champignons

et parasites. Elle possède une toxicité rénale et neurologique si la posologie n'est pas maitrisée. (Frasca *et al.*, 2008).

Table 2.10 – Bactéries gram négatif sensibles à la colistine

Bactéries	**Entérobactéries**	**Pseudomonas**	**Autres bacilles Gram négatif**	**Anaérobies**
Germes sensibles	*E. Coli* *Citrobacter* *Klebsiella* *Enterobacter* *Marganella* *Salmonella* *Shigella*	*P. aeruginosa* *P. fluorescens* *P. putida*	*Acinetobacter* *S. maltophilia* *Moraxella* *H. influenzae* *Bordetella* *Pasteurella* *L. pneumophila*	*B. melaninogenicus* *B. oralis*

La colistine est isolée à partir de *Bacillus polymyxa*. En médecine vétérinaire, la colistine est utilisée pour le traitement ou la prévention des entérites. Dans certains pays, elle est également utilisée comme facteur de croissance pour les animaux destinés à l'industrie alimentaire (Yin *et al.*, 2015).

La colistine est une molécule amphiphile. Son mécanisme d'action passe par la désorganisation de la membrane phospholipidique des bactéries grâce à cette propriété chimique (Arabski *et al.*, 2009).

Table 2.11 – Médicaments sur le marché contenant de la colistine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Colibolus	Laboratoire Biard	Comprimé	Colistine
Solucol	Virbac	Solution Injectable	
Virgocilline	Merial		
Ampicoline	Qalian		Ampicilline, Colistine
Colampi I	Laboratoires Biove		
Colicilline	Virbac		
Mammitel	Laboratoires Biove	Suspension Intramammaire	Cloxacilline, Colistine
Masticoli	Virbac		
Belcospira Oral	Merial	Poudre Pour Solution Buvable	Colistine, Spiramycine
Allegrocine	Intervet	Suspension Injectable	Ampicilline, Colistine, Dexaméthasone
Ampidexalone	Merial		
Ampimycine Dex	Ceva Sante Animale		
Multibio	Virbac		
Sodibio	Laboratoire Biard		

Table 2.12 – Posologie des médicaments à base de colistine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	**Posologie**
Colibolus	50 000 UI de colistine par kg de poids vif matin et soir
Solucol	25 000 UI de colistine par kg de poids vif matin et soir pendant 3 jours
Virgocilline	
Ampicoline	25 000 UI de colistine et 10 mg d'ampicilline par kg de poids vif matin et soir pendant 3 jours
Colampi I	
Colicilline	
Mammitel	200 mg de cloxacilline et 500 000 UI de colistine par quartier
Masticoli	
Belcospira Oral	130 000 UI de spiramycine et 100 000 UI de colistine par kg de poids vif et par jour pendant 3 à 5 jours
Allegrocine	10 mg d'ampicilline et 25 000 UI de colistine et 0,05 mg de dexaméthasone par kg de poids vif matin et soir pendant 3 jours
Ampidexalone	8,7 mg d'ampicilline, 25 000 UI de colistine et 0,025 mg de dexaméthasone par kg de poids matin et soir pendant 3 jours
Ampimycine Dex	10 mg d'ampicilline,25 000 UI de colistine et 0,025 mg de dexaméthasone par kg de poids vif matin et soir pendant 3 jours
Multibio	10 mg d'ampicilline, 25 000 UI de colistine et 0,023 mg de dexaméthasone par kg de poids vif matin et soir pendant 3 jours

Tout d'abord, la colistine est retrouvée seule, sous forme de comprimé. Cette forme est indiquée pour le traitement des infections à *Escherichia coli* chez le veau. Il est recommandé d'utiliser la colistine seulement en dernier recours, lorsque les bactéries sont résistantes aux traitements antibiotiques plus classiques, pour éviter l'apparition de résistances.

Il existe des effets indésirables, notamment neurotoxicité et nephrotoxicité.

Comme étudié précédemment, la colistine peut aussi être associée à l'ampicilline seule ou avec la dexaméthasone.

La colistine peut en outre être administrée avec la cloxacilline. Cette dernière est une pénicilline M, utilisée pour la prise en charge des infections à *Streptococcus spp.* et *Staphylococcus* spp.. Il s'agit de suspensions intramammaires, utilisées chez les vaches en lactation pour le traitement des mammites sensibles à ces deux antibiotiques.

Enfin, la colistine peut être associée à la spiramycine sous forme de suspension buvable. La spyramicine appartient aux macrolides. Cette forme est préconisée chez les bovins pour traiter les infections sensibles à ces deux antibiotiques. Elle doit être dissoute

dans une boisson ou un aliment liquide consommé ensuite par l'animal. Cette association étend le spectre d'activité de ces substances :

— Bactéries Gram positif : *Streptococcus spp., Staphylococcus spp.*
— Mycoplasmes
— Bactéries Gram négatif :*Mannheimia haemolytica, Pasteurella multocida, Escherichia coli*

2.7 Les aminosides

2.7.1 Présentation de la classe

Les aminosides ont une action bactéricide. Leur structure est un enchaînement de sucres aminés. Ceux-ci sont reliés par des ponts osidiques.

Les aminosides sont classés en deux groupes (Jacquot, 2008) :

— Les aminosides à noyau streptidine
— Les aminosides à noyau déoxystreptamine

Les aminosides se lient à la sous-unité 30S du ribosome de la bactérie. Ainsi, la lecture de l'ARN messager est perturbée, ce qui inhibe la synthèse protéique. L'action de ces antibiotiques est donc principalement bactériostatique. Cependant, cette classe d'antibiotiques a également une action bactéricide par perturbation de la membrane bactérienne (figure 2.7.1).

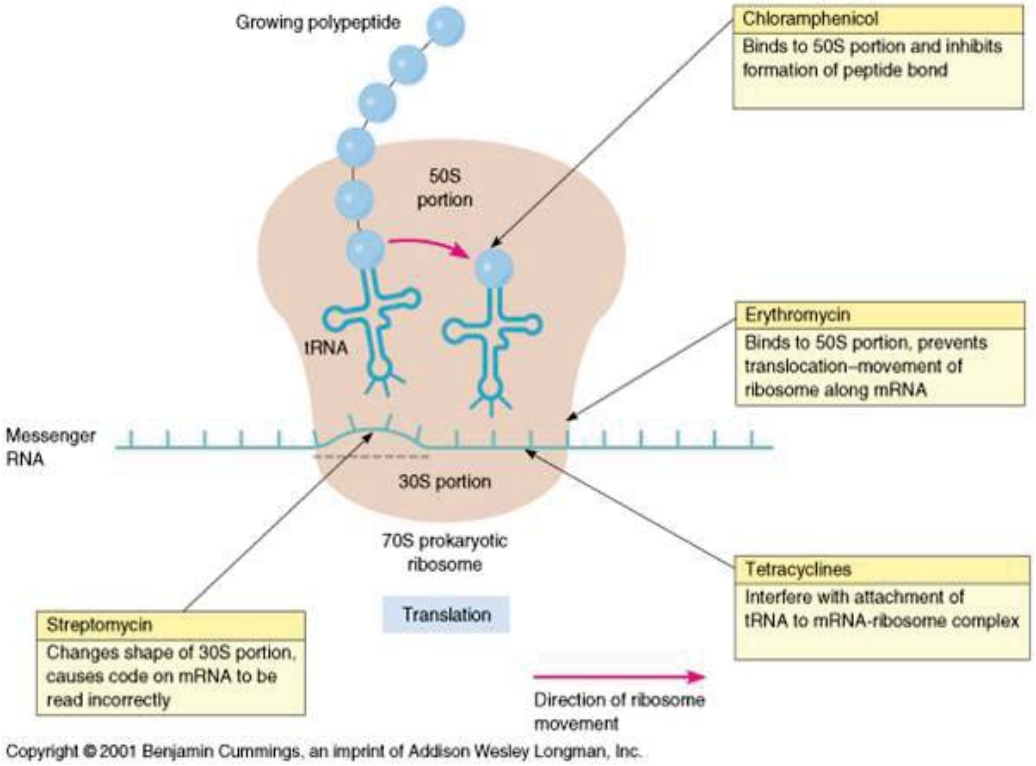


FIGURE 2.7.1 – Mode d'action des antibiotiques sur le ribosome bactérien (Marieb, 2001)

2.7.2 Médicaments contenant des aminosides

2.7.2.1 Streptomycine

« Streptomycine » est un terme regroupant plusieurs molécules : la Streptomycine A appelée couramment streptomycine et la streptomycine B.

Le composant principal de la streptomycine est la streptidine (Korzybski *et al.*, 2013).

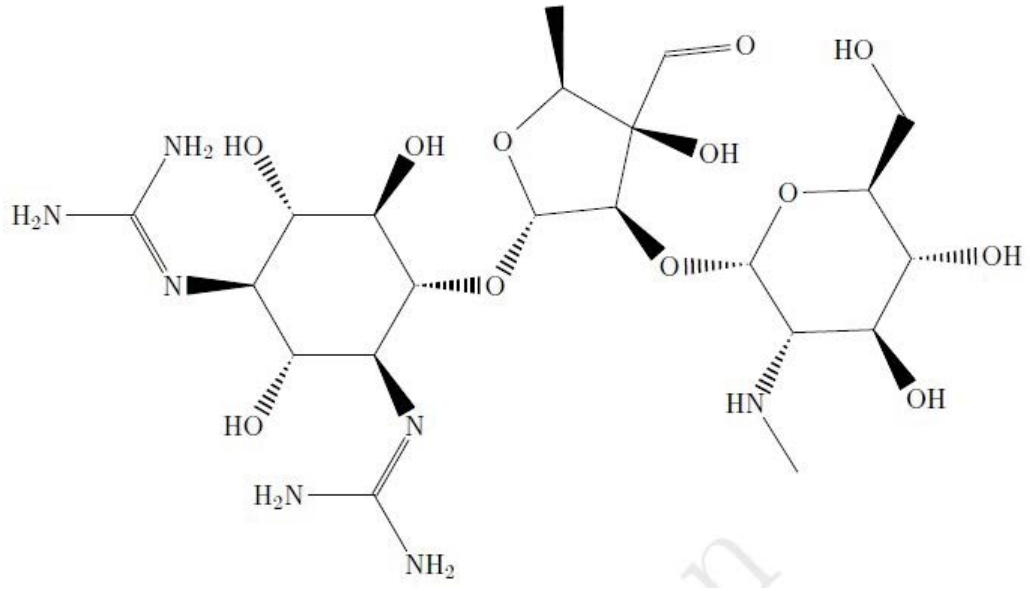


FIGURE 2.7.2 – Streptomycine

Usage de la streptomycine chez les bovins

L'usage de la streptomycine chez les bovins, ainsi que la posologie associée, est résumé dans les tableaux ci-après.

Table 2.13 – Médicaments sur le marché contenant de la streptomycine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Peni dhs coophavet	Merial	Suspension injectable	Dihydrostreptomycine + benzylpenicilline
G. promycine	Laboratoires Biove		
Intramicine	Ceva Santa Animale		
Shotapen	Virbac		
Penijectyl			
Masti-peni		Suspension intramammaire	
Nafpenzal T	Intervet		Dihydrostreptomycine + benzylpenicilline + nafcilline
Histacline	Ceva Santa Animale	Suspension injectable	Dihydrostreptomycine + benzylpenicilline + prednisolone
Histabiosone	Intervet		Dihydrostreptomycine + benzylpenicilline + chlorphénamine
Pen-hista-strep	Vetoquinol		
Panafuge	Intervet	Poudre et solvant pour solution injectable	Dihydrostreptomycine + tetracycline

Table 2.14 – Posologie des médicaments à base de streptomycine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	**Posologie**
Peni dhs coophavet	11,4 à 17,1 mg de benzylpénicilline et 16,4 à 24,6 mg de dihydrostreptomycine par kg de poids vif et par jour pendant 3 à
G. promycine	
Intramicine	5 jours11,4 à 17,1 mg de benzylpénicilline et 20 à 30 mg de dihydrostreptomycine par kg de poids vif et par jour pendant 3 à 5 jours
Shotapen	1 à 2 injections de 13,1 mg de benzylpénicilline et 16,4 mg de dihydrostreptomycine par kg de poids vif à 72 heures d'intervalle
Penijectyl	11,4 à 17,1 mg de benzylpénicilline et 16,4 à 24,6 mg de dihydrostreptomycine par kg de poids vif et par jour pendant 3 à 5 jours
Masti-peni	570 mg de benzylpénicilline et 410 mg de dihydrostreptomycine par quartier malade
Nafpenzal T	170,41 mg de benzylpénicilline, 100 mg de nafcilline et 100 mg de dihydrostreptomycine par quartier au tarissement
Histacline	11,4 mg de benzylpénicilline, 20 mg de dihydrostreptomycine et 0,25 mg de prednisolone par kg de poids vif et par jour pendant 3 à 5 jours
Histabiosone	5,7 à 11,4 mg de benzylpénicilline et 12 à 25 mg de dihydrostreptomycine par kg de poids vif et par jour pendant 3 à 5 jours
Pen-hista-strep	4,56 à 11,4 mg de benzylpénicilline et 10 à 25 mg de dihydrostreptomycine par kg de poids vif et par jour pendant 3 à 5 jours
Panafuge	1 g de tétracycline et 5 g de dihydrostreptomycine

2.7.2.2 Neomycine

Les tableaux ci-dessous résument l'usage de la neomycine chez les bovins ainsi que la posologie associée.

Table 2.15 – Médicaments sur le marché contenant de la néomycine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Cloxagel HL 500	Merial	Suspension intramammaire	Cloxacilline, Néomycine
Mastijet	Intervet		Bacitracine, Néomycine, Prednisolone, Tétracycline
Mastitar HL	Virbac		Benzylpénicilline, Néomycine
Speciorlac	Merial	Pommade intramammaire	Néomycine, Spiramycine
Cortexiline	Merial	Suspension injectable	Benzylpénicilline, Méthylprednisolone, Néomycine
Neomay	Laboratorios Maymo	Poudre pour administration dans l'eau ou boisson	Néomycine

Table 2.16 – Posologie des médicaments à base de néomycine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	**Posologie**
Cloxagel HL 500	500 mg de cloxacilline et 340 000 UI de néomycine par quartier au tarissement
Mastijet	184,8 mg de tétracycline, 250 mg de néomycine, 2000 UI de bacitracine et 10 mg de prednisolone par quartier infecté deux fois par jour pendant 4 traites
Mastitar HL	850 mg de benzylpénicilline et 500 000 UI de néomycine par quartier
Speciorlac	200 000 UI de spiramycine et 100 000 UI de néomycine par un quartier
Cortexiline	11,4 mg de benzylpénicilline, 12 mg de néomycine et 0,4 mg de méthylprednisolone par kg de poids vif et par jour pendant 4 à 5 jours
Neomay	25 000 UI de néomycine par kg de poids vif par jour pendant 3 à 4 jours

L'association cloxacilline et néomycine est indiquée dans le traitement des mammites. Synergique, cette association sous forme de suspension intramammaire possède une activité sur quasiment toutes les bactéries responsables de ces infections. Des réactions allergiques graves peuvent survenir lors de l'application. Pendant la période de tarissement, ces antibiotiques sont administrés en prévention.

L'association bacitracine, néomycine, prednisolone et tétracycline est également disponible sous forme de suspension intramammaire. De même, elle est indiquée en traitement des mammites à germes sensibles à ces bactéries. L'activité est synergique, bactéricide (bacitracine, néomycine), et bactériostatique (tétracycline). L'activité bactéricide est renforcée par la présence de prednisolone.

Cette double indication thérapeutique et préventive est également rencontrée pour l'association néomycine/spiramycine, commercialisée sous forme de pommade intramammaire, et pour l'association benzylpénicilline/néomycine, commercialisée sous forme de suspension mammaire.

Sous forme de suspension injectable, la nemoycine est administrée avec de la benzylpénicilline et de la méthylprednisolone. Cette association entre un aminoside et une beta-lactamine est active contre de nombreuses infections (pneumonies, abcès, infections urinaires, ...).

Enfin, la néomycine administrée comme seul principe actif est indiquée pour le traitement des gastro-entérites dues à *Escherichia coli* (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015).

2.7.2.3 Framycetine

Ci-dessous sont présentés les médicaments sur le marché contenant de la framycetine à l'usage des bovins.

Table 2.17 – Médicament sur le marché contenant de la framycetine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Ubrostar Suspension Intramammaire Hors Lactation	Boehringer Ingelheim France	Suspension intramammaire	Benzylpénicilline, Framycétine, Pénéthamate

Il n'existe qu'une spécialité sur le marché en France à l'usage des bovins contenant du sulfate de framycétine (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015). Cette association est indiquée dans le traitement des mammites et dans leur prévention pendant la période de tarissement. Le pénéthamate est une prodrogue de la benzylpénicilline. La posologie est de 100 mg d'iodhydrate de pénéthamate, 280 mg de bénéthamine benzylpénicilline et 100 mg de sulfate de framycétine dans chaque quartier après la dernière traite d'une lactation.

2.8 Les sulfamides

2.8.1 Présentation de la classe

Historiquement, les sulfamides furent les premières molécules utilisées en tant qu'agents antibactériens. Leur découverte date des années 1930. Cependant, ils provoquent des effets indésirables notables et il existe de nombreuses résistances à cette classe, ce qui a considérablement réduit leur utilisation par la suite.

La structure commune des sulfamides est le groupement sulfonamide $SO_2{-}NH_2$. Classiquement, cette classe est divisée en trois groupes :

— les sulfonylarylamines
— les non-sulfonylarylamines

Ces deux premiers groupes possèdent leur groupement sulfonamide fixé sur un cycle benzène.

— Les aminosides dont le groupement sulfonamide n'est pas fixé sur un cycle benzène (Avenel-Audran, 2008)

2.8.2 Médicaments à base de sulfamides

2.8.2.1 Triméthoprime

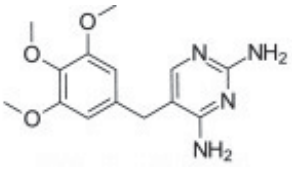


FIGURE 2.8.1 – Structure chimique de la triméthoprime (Jewell *et al.*, 2015)

La triméthoprime est administrée aux bovins en association avec la sulfadoxine, la sulfaméthoxypyridazine, la sulfaméthoxine, la sulfadimine et la sulfadiazine. Elle est indiquée dans le traitement des infections :

— Respiratoires
— Uro-génitales
— Digestives
— Cutanées

L'usage de cette molécule chez les bovins est résumé dans les tableaux ci-dessous, ainsi que les posologies associées.

TABLE 2.18 – Médicaments sur le marché à l'usage des bovins contenant de la triméthoprime (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Borgal 24 %	Virbac	Solution injectable	Triméthoprime + Sulfadoxine
Duoprim	Intervet		
Primazine	Laboratoires Biove		Triméthoprime + Sulfaméthoxypyridazine
Septotryl Injectable	Vetoquinol		
Sulfacycline	Laboratoires Biove		Triméthoprime + Sulfaméthoxine
Trisulmix Injectable	Merial		
Amphoprim	Virbac		Triméthoprime + Sulfadimine
Tribrissen Injectable	Intervet	Suspension injectable	Triméthoprime + Sulfadiazine

Table 2.19 – Posologie des médicaments à base de triméthoprime (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	Posologie
Borgal 24 %	13,4 mg de sulfadoxine et 2,7 mg de triméthoprime par kg de poids vif par jour pendant 5 jours
Duoprim	
Primazine	10 mg de sulfadiméthoxypyridazine et 2 mg de triméthoprime par kg de poids corporel toutes les 12 heures pendant 3 jours
Septotryl Injectable	13,4 mg de sulfadoxine et 2,7 mg de triméthoprime par kg de poids vif
Sulfacycline	12,5 mg de sulfadiméthoxine et 2,7 mg de triméthoprine par kg de poids vif pendant 3 jours
Trisulmix Injectable	18,6 mg de sulfadiméthoxine et 4 mg de triméthoprime par kg de poids vif et par jour pendant 3 jours
Amphoprim	12,5 mg de sulfadiméthoxine et 2,7 mg de triméthoprine par kg de poids vif par jour pendant 3 jours
Tribrissen Injectable	13,4 mg de sulfadoxine et 2,7 mg de triméthoprime par kg de poids vif

2.9 Les quinolones

2.9.1 Présentation de la classe

Les quinolones sont utilisées en usage courant depuis 1986. Elles dérivent toutes de l'acide nalixidique, décrit en 1962. Leur action consiste à inhiber l'action des topoisomérases II et IV. Ces enzymes ont pour rôle de modifier l'enroulement des molécules d'ADN par coupure d'un des deux brins d'ADN. Ce sont des protéines essentielles dans les opérations de réplication génomique (Avenel-Audran, 2008).

Ces substances possèdent un large spectre d'action. Cependant, de nombreux effets secondaires ont été décrits, notamment sur les tissus tendineux (tendinopathies) et cartilagineux. Des effets irréversibles peuvent se produire, comme la rupture d'un tendon (Saint *et al.*, 2001).

2.9.2 Médicaments à base de quinolones

2.9.2.1 Enrofloxacine

L'enrefloxacine est une quinolone de troisième génération. Outre un noyau quinolone, elle est constituée notamment d'un atome de fluor et d'un cycle pipérazine.

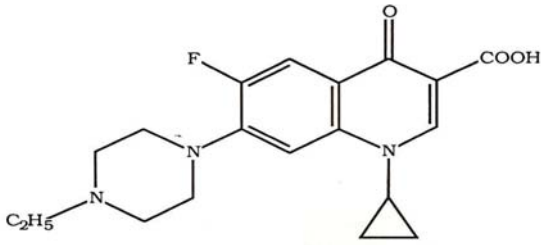


FIGURE 2.9.1 – Structure de l'enrofloxacine (Widmann, 2008)

Elle possède une action contre les bactéries à Gram négatif, y compris :

- *Escherichia coli*
- *Klebsiella spp.*
- *Actibobacillus pleuropneumoniae*
- *Mannheimia haemolytica*
- *Pasteurella spp.*

Elle est donc prescrite pour traiter les infections à bactéries sensibles, en particulier les infections respiratoires et digestives, les mammites ou encore les arthrites. Elle est utilisée en seconde intention quand d'autres traitements se sont montrés inefficaces à cause de l'antibiorésistance.

En cas d'utilisation inadéquate, il peut se produire une dégénérescence du cartilage chez le veau. Il existe des effets antagonistes si l'administration est concomitante avec des macrolides ou des tétracyclines.

Ci-dessous est présenté l'usage de cette molécule chez les bovins, ainsi que les posologies associées.

Table 2.20 – Médicaments sur le marché à l'usage des bovins contenant de l'enrofloxacine (Juillet 2015) (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Médicament	**Titulaire de l'AMM**	**Forme pharmaceutique**	**Substances actives**
Baytril 5%	Bayer Healthcare	Solution injectable	Enrofloxacine
Baytril 10%			
Baytril XM 100 mg/ml	Bayer Healthcare		
Chanenro 100 mg/ml	Chanelle Pharmaceuticals Manufacturing		
Chanenro 50 mg/ml	Chanelle Pharmaceuticals Manufacturing		
Enrocare 10%	Animalcare		
Enrox 100, 100 mg/ml	Krka		
Floxibac 50 mg/ml	Chanelle Pharmaceuticals Manufacturing		
Floxibac 100 mg/ml	Chanelle Pharmaceuticals Manufacturing		
Quinotryl 50 mg/ml	Biolis		
Quinotryl 100 mg/ml	Biolis		
Respytril 100 mg/ml	Norbrook Laboratories		

Table 2.21 – Posologie des médicaments à base de quinolones (Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail, 2015)

Nom commercial	**Posologie**
Baytril 5%	5 mg d'enrofloxacine par kg de poids vif par jour pendant 3 à 5 jours
Baytril 10%	
Baytril XM 100 mg/ml	1 injection de 7,5 mg d'enrofloxacine par kg de poids vif
Chanenro 100 mg/ml	5 mg d'enrofloxacine par kg poids corporel pendant 3 à 5 jours
Chanenro 50 mg/ml	
Enrocare 10%	
Enrox 100, 100 mg/ml	1 injection de 5 à 7,5 mg d'enrofloxacine par kg de poids vif pendant 1 à 3 jours
Floxibac 50 mg/ml	5 mg d'enrofloxacine par kg de poids vif par jour pendant 3 à 5 jours
Floxibac 100 mg/ml	
Quinotryl 50 mg/ml	
Quinotryl 100 mg/ml	
Respytril 100 mg/ml	1 injection de 7,5 mg d'enrofloxacine par kg de poids vif

Chapitre 3

Inhibition de la méthanisation

Les facteurs d'inhibition de la méthanisation sont très étudiés, d'une part car pouvant être provoqués par de nombreuses substances, et d'autre part car ils peuvent diminuer de manière drastique le rendement en méthane.

Il existe de nombreuses sources d'inhibition de la méthanisation. D'une part, les paramètres physico-chimiques comme le pH, l'alcalinité ou encore la température influencent la méthanisation, comme décrit dans la partie 1.4. D'autre part, certaines molécules présentes dans le réacteur peuvent inhiber la méthanisation. Celles-ci seront décrites dans cette partie.

De nombreuses substances d'origine synthétique ou hémi-synthétique sont susceptibles de se retrouver dans le milieu réactionnel, selon la provenance des effluents à méthaniser. De plus en plus de polluants sont retrouvés dans les sols. En particulier, le développement des nanotechnologies est en pleine expansion et ces substances peuvent perturber la digestion anaérobie. Des nanoparticules peuvent être retrouvées dans les déchets liés à l'agriculture ou encore dans les déchets ménagers (Chen *et al.*, 2014).

Lors de la mise en place d'une unité de méthanisation, il est nécessaire d'effectuer des dosages dans les effluents, et d'étudier l'effet des substances retrouvées dans le milieu. Des études, pour la plupart récentes, ont été effectuées sur de nombreuses substances, mais la littérature ne couvre pas à ce jour l'ensemble des molécules pouvant être présentes dans le substrat. Il pourra donc être nécessaire de mener des tests préalables quant à leurs effets.

Les antibiotiques sont retrouvés de manière ubiquitaire dans les déchets issus de l'agriculture et de l'élevage. Ceci concerne en particulier le lisier, utilisé couramment

comme effluent de digestion anaérobie. Celui-ci est la première source d'antibiotiques dans l'environnement. La seconde source de contamination provient de l'eau utilisée pour nettoyer les habitats animaliers (Lallai *et al.*, 2002).

Les substances antibiotiques sont très utilisées en tant qu'agents thérapeutiques contre les infections à caractère bactériennes, mais aussi en supplément de l'alimentation, tant dans un but préventif que pour favoriser la croissance.

Il existe deux types de substances chimiques inhibant la méthanisation : les substances organiques et inorganiques.

3.1 Inhibition par des substances chimiques organiques

La méthanisation peut être inhibée par un grand nombre de substances chimiques de nature organique. Il est nécessaire de se focaliser sur celles susceptibles de se retrouver dans les principaux substrats de méthanisation. En particulier, il s'agit des classes chimiques suivantes :

— Benzènes halogénés
— Phénols halogénés
— Phénols et alkyl phénols
— Aliphatiques halogénés
— Acides gras à chaine longue (Chen *et al.*, 2014)

3.1.1 Chlorophénols

Les cholorophénols sont des substances organiques considérées comme des polluants prioritaires aux Etats-Unis. En France, le pentachlorophénol, considéré comme bioaccumulable, ne peut depuis 1992 être vendu à destination du grand public à des concentrations supérieures à 0,1 %. Un arrêté de 2005 définit de plus des objectifs et des limites de qualité des rejets (Levet *et al.*, 2008). Ils sont utilisés comme antiseptiques, fongicides, pesticides et herbicides, notamment dans le traitement du bois et des fibres végétales. Ce sont des substances cancérigènes.

Chimiquement, il s'agit d'un cycle benzénique substitué par un groupement OH et un ou plusieurs atomes de chlore.

Elles sont produites par addition d'un groupement chlorine sur un phénol. Bien que ces substances soient digérées au cours de la méthanisation, elles ont un effet inhibiteur sur le processus, en particulier sur les étapes d'acidogénèse et de méthanogénèse. Le prétraitement à mettre en oeuvre pour les éliminer est la déchlorination.

La toxicité varie selon le nombre et la position des substitutions chlorine. L'action toxique s'effectue sur la membrane cytoplasmique de la cellule. Le gradient de protons à travers la membrane est rompu, les transductions sont interférées. Enfin la croissance de la cellule est altérée par perturbation du couplage entre les réactions anaboliques et cataboliques (Chen *et al.*, 2014).

3.1.2 Aliphatiques halogénés

Les aliphatiques halogénés sont des substances organiques utilisées dans l'industrie, notamment comme solvants et intermédiaires réactionnels. Ils sont retrouvés dans l'environnement : leur biodisponibilité faible implique une dégradation lente. Il s'agit entre autres des insecticides de type chlorés.

Les substances chimiques retrouvées dans les sols et les eaux sont le dichlorométhane, le chloroforme, le trichloroéthylène et le perchloroéthylène.

Ces molécules inhibent principalement l'étape de méthanogénèse dans le processus de méthanisation. En particulier, les aliphatiques chlorés subissent durant cette phase des réactions de déhalogénation, c'est-à-dire que l'atome de chlore est remplacé par un atome d'oxygène. Ceci provoque une déchloration qui peut être massive selon la concentration en halogénés présents initialement dans le milieu réactionnel et les produits de ce mécanisme, comme le chlorure de vinyle, s'accumulent dans le réacteur.

Le mécanisme d'inhibition est la formation d'intermédiaires réactionnels très réactifs et toxiques. D'autres modèles démontrent que l'inhibition est à la fois directe et indirecte. Tout d'abord, à cause de son haut potentiel d'oxydoréduction, le chloroforme se lie à des enzymes réduites intracellulaires intervenant dans la méthanogénèse. Ainsi, le substrat normal ne peut plus se lier. Ceci produit une inhibition directe. Enfin, l'inhibition est indirecte car ceci rompt l'équilibre entre la quantité d'enzyme libres et non libres extra-cellulaires (Institut de veille sanitaire, 2005).

Table 3.1 – Concentrations seuils en aliphatiques halogénés inhibant totalement la méthanogénèse

Substance	Concentration seuil
Chloroforme	0,09 mg.L^{-1}
Dichlorométhane	3,9 mg.L^{-1}
Trichloroéthylène	18 mg.L^{-1}

3.1.3 Acides gras à chaine longue et acidose

Les acides gras à chaine longue sont constitués de chaines carbonées avec, à leur extrémité, des molécules d'hydrogène et un groupe acide.

Ils sont ubiquitaires dans la matière organique, et sont retrouvés entre autres dans les déchêts végétaux. Il ne sont pas dégradés, mais forment des agrégats insolubles flottant à la surface des déchets (Chen *et al.*, 2014; Mata-Alvarez *et al.*, 2014).

Les acides gras volatils (AGV) sont des intermédiaires de la méthanisation. Ils sont produits lors de l'étape d'acidogénèse. Ils seront ensuite transformés en méthane lors des deux dernières étapes. Il est important d'empêcher l'accumulation des AGV dans le milieu réactionnel car le pH s'en trouve diminué, ce qui a un impact important sur le rendement en méthane.

En effet, l'acidose est le problème le plus fréquemment rencontré dans les unités de méthanisation. La modification du pH peut être la conséquence de nombreuses causes entrainant une composition non désirée du milieu réactionnel, et il peut être concrètement difficile de corriger le problème.

Dans le cas d'une méthanisation en réacteur ouvert (entrées et sorties continues du système réactionnel), et dans le cas d'accumulation d'acides gras volatiles, il est nécessaire de diminuer le débit d'alimentation pour favoriser le développement des bactéries acétogènes et méthanogénes par rapport aux bactéries hydrolytiques et acidogènes (Damiano, 2011).

Enfin, pour éviter l'acidose, il faut maintenir une pression partielle en dihydrogène faible. En effet, celle-ci est inhibitrice des bactéries acétogènes et favorise l'acidose. Il faut également maintenir un pouvoir tampon suffisant dans le milieu réactionnel pour éviter qu'une production importante d'acide ne déstabilise le pH global du milieu, et donc l'ensemble de la méthanisation (Delfosse, 2011).

3.2 Inhibition par des substances chimiques inorganiques

3.2.1 Ammoniac

L'ammoniac est à la fois essentiel au développement des bactéries, et est un inhibiteur de la méthanisation à haute concentration.

La forme ionisée $NH_4{}^+$ existe pour un pH inférieur au pKa de 9,3. Pour un pH supérieur à cette valeur, la forme non ionisée NH_3 est retrouvée. Cette dernière est toxique pour les bactéries et inhibe les microorganismes dans l'étape de méthanogénèse. Il a été démontré que l'activité de production du méthane pouvait être inhibée à hauteur de 50%. En particulier, pour le lisier de vache, à une température de 55 °C et à un pH de 7,2, une concentration totale en ammoniac de 4000 mg.L^{-1} inhibe 50% des bactéries acétoclastes et une concentration de 7500 mg.L^{-1} inhibe 50% des méthanogènes hydrogéntotrophiques.

A contrario, une concentration en ammoniac inférieure à 200 mg.L^{-1} est nécessaire au processus de méthanisation.

L'inhibition par l'ammoniac (ou ammoniaque sous forme liquide) est plus importante à des températures thermophiliques que mésophiliques. En effet, plus la température augmente, plus la quantité libre d'ammoniac (NH_3) est importante par rapport aux ions ammonium ($NH_4{}^+$). Enfin, plus le pH est élevé, plus la quantité d'ammoniac libre augmente. En solution aqueuse, l'équilibre entre les formes est la suivante :

$$NH_4{}^+ + OH^- \longleftrightarrow NH_3 + H_2O \tag{3.2.1}$$

Par exemple, si le pH passe de 7 à 8, la concentration en solution en NH_3 est multipliée par 8 (Chen *et al.*, 2014).

L'accumulation d'ammoniac est due à une activité trop importante des bactéries hydrolytiques par rapport aux autres étapes de la méthanisation. Le problème est rencontré par exemple avec l'utilisation du lisier comme substrat de méthanisation, car celui-ci contient beaucoup de protéines, qui seront dégradées en grande quantité durant l'étape d'hydrolyse. Ceci aboutira à une surcharge en ammoniac dans le milieu réactionnel (Delfosse, 2011).

3.2.2 Oxygène

La méthanisation se déroule par définition en milieu anaérobie. L'introduction d'oxygène aura des conséquences importantes sur le processus. Toutes les étapes de la méthanisation s'en trouvent inhibées, sauf l'hydrolyse. L'introduction d'oxygène peut se produire d'une part durant les manipulations effectuées sur le réacteur, et d'autre part avec les effluents à méthaniser (Cresson, 2006; Delfosse, 2011).

Il faudra donc broyer les substrats poreux avant leur introduction dans le réacteur, pour éviter l'ajout d'oxygène concomitent. Enfin, il est judicieux de ne pas laisser au contact de l'air les substrats avant leur introduction dans le réacteur pendant une période trop importante, afin d'éviter la dégradation aérobie du milieu.

3.2.3 Sulfure d'hydrogène

Le sulfure d'hydrogène (H_2S) est produit en faible quantité durant la méthanisation. Il est retrouvé à l'état de traces dans le biogaz. Il possède une action inhibitrice des étapes d'acidogénèse et d'acétogénèse, ce qui produit un déséquilibre avec les réactions d'hydrolyse et l'accumulation des produits à cette étape. Comme pour l'ammoniac, la quantité de protéines présent dans le susbtrat est proportionnelle au sulfure d'hydrogène produit durant la méthanisation (Delfosse, 2011).

De plus, ce gaz présente un risque pour les opérateurs travaillant sur le réacteur. En effet, c'est un gaz mortel. La VLEP (Valeur Limite d'Exposition Professionnelle) est de 5 ppm sur 8 heures. Bien que son odeur d'oeuf pourri soit caractéristique, celle-ci n'est plus détéctée par les sens de l'Homme à partir de 100 ppm (Bec *et al.*, 2013).

3.2.4 Métaux lourds

Les métaux lourds sont présents dans les déchets industriels dans des concentrations significatives. Les plus fréquemment retrouvés sont le cuivre, le zinc, le nickel, ainsi que le plomb, le mercure, le chrome, le cadmium, le fer, le cobalt et le molybdène.

Bien que certaines métaux lourds comme le cuivre, le nickel, le fer ou encore le zinc soient requis en tant qu'activateurs enzymatiques, ceux-ci ont un effet inhibiteur sur la méthanisation à haute concentration.

Contrairement aux autres substances toxiques, la problématique rencontrée est que les métaux lourds ne sont pas dégradables. Ils s'accumulent donc au sein des cellules jusqu'à atteindre des concentrations toxiques. Les métaux lourds vont ainsi inhiber les bactéries acétogènes, acidogènes, méthanogènes et les réducteurs du sulfate.

Dans un substrat de digestion anaérobie, les métaux lourds sont précipités en sulfides, carbonates ou hydroxydes, puis chélatés et maintenus en solution. Alternativement, ils peuvent s'associer à des ligands.

L'effet des métaux lourds sur la digestion anaérobie est directement lié à la concentration en métaux lourds libres, bien que ce ne soit pas le cas pour l'aluminium qui est peu soluble dans des conditions anaérobies : son impact est proportionnel à sa concentration en $Al_2(SO_4)_3$.

Finalement, les métaux libres s'associent et inactivent les enzymes et les protéines. Ils peuvent également remplacer un métal dans les enzymes prosthétiques.

Le traitement du substrat à méthaniser par des métaux antagonistes est un axe de recherche pour lutter contre l'effet néfaste des métaux lourds. Il est par exemple possible de les précipiter, les adsorber ou les chelater par des ligands.

3.3 Inhibition par les antibiotiques

Les antibiotiques peuvent jouer plusieurs effets sur le processus de méthanisation. Tout d'abord, la vitesse de production de méthane peut être diminuée, en particulier dans les premiers jours d'incubation. Ceci peut être dû au temps d'adaptation des bactéries aux antibiotiques présents dans le milieu, celles-ci produisant ensuite des mécanismes de résistance.

Le deuxième effet possible est la diminution de la quantité de méthane produite durant le processus d'incubation, ce qui résulte des effets bactériostatiques ou bactéricides des antibiotiques. Le nombre de colonies bactériennes s'en trouve diminué dans le substrat à méthaniser, et la production de méthane est amoindrie.

L'inhibition de la méthanisation se produit sur une ou plusieurs des étapes du processus plutôt que sur son ensemble. En effet, les espèces de bactéries intervenant dans chacune d'entre elles sont différentes : il en va de même de leur sensibilité aux antibiotiques.

Ainsi, les antibiotiques présents dans le milieu auront un effet nul, moindre ou important sur chacune des espèces présentes.

Les tests d'inhibition de la méthanisation par des antibiotiques étudiés concernent dans la plupart des cas la méthanisation des déchets agricoles et du lisier bovin ou porcin.

L'effet des antibiotiques sur les bactéries, et *in extenso* sur le processus de méthanisation n'est pas dû dans la totalité des cas à la forme telle qu'administrée, mais peut être la conséquence des sous-produits de dégradation. Ainsi, les antibiotiques sont souvent métabolisés seulement partiellement et peuvent être retrouvés sous leur forme initiale et sous forme de sous-produits, chacun possédant, ou pas, une activité antibactérienne.

3.3.1 Ampicilline

Une étude a montré que l'ampicilline n'a pas d'impact sur la production totale de biogaz jusqu'à une concentration de 350 mg.L^{-1}. Par contre, les taux de production ont été abaissés pendant les trente premiers jours du processus, et dans la phase de croissance exponentielle de production de méthane (Mitchell *et al.*, 2013). Des produits de dégradation de l'ampicilline ont été retrouvés, ce qui confirme la dégradation de cette substance par les bactéries anaérobies. L'ampicilline a totalement disparue sous dix jours. Le produit de dégradation est supposé être l'acide ampicilloïque($\frac{m}{z} = 368.1$). Il disparait totalement sous 20 jours, et ceci pour toutes les concentrations d'antibiotiques testées (Zhang *et al.*, 2014).

3.3.2 Thiamphenicol

Dans un lisier de porc, le thiamphenicol produit un effet non négligeable sur le processus de méthanisation. En premier lieu, la vitesse de production est moindre en présence de cet antibiotique par rapport au témoin, et ceci se caractérise proportionnellement à la concentration en thiamphenicol du milieu. Cet effet résulte du temps d'adaptabilité des bactéries à l'antibiotique et à la mise en place de stratégies de résistance.

De plus, la quantité totale de méthane produite, mesurée sur 400 heures, est modifiée. En particulier, pour une concentration en thiamphenicol de 80 mg.L^{-1}, la production de méthane est divisée par 1,7 par rapport au témoin après 10 jours de méthanisation. Dans les mêmes conditions et pour une concentration en antibiotique de 160 mg.L^{-1}, ce rapport est de 2 (Lallai *et al.*, 2002).

3.3.3 Amoxicilline

Dans un lisier de porc, des études ont montré qu'un substrat de méthanisation contenant une concentration de 60 mg.L^{-1} d'amoxicilline n'a pas d'effet sur la production de méthane les 80 premières heures (Lallai *et al.*, 2002). Ensuite, la production de méthane diminue d'autant plus que la concentration en amoxicilline augmente. Après 10 jours d'incubation, et pour une concentration en amoxicilline de 60 mg.L^{-1}, la production de méthane diminue de 25 %. Ce pourcentage passe à 32 % pour une concentration en antibiotique de 120 mg.L^{-1}.

3.3.4 Tylosine

Il a été montré que la tylosine, appartenant aux macrolides, réduit la production de biogaz de 10 à 38%, respectivement à des concentrations allant de 130 à 913 mg.L^{-1}. Une concentration inférieure à 91 mg.L^{-1} n'a pas d'impact sur cette production (Mitchell *et al.*, 2013). De plus, des produits de dégradation de la réaction anaérobie ont été trouvés : d'abord, la tylosine est rapidement transformée en tylosine-D, qui présente seulement 35% de l'activité antibiotique initiale. Puis les réactions suivantes se sont principalement produites :

— Protonation de la tylosine-D
— Conversion de l'aldehyde en acide carboxylique

La majorité des produits de dégration ont persisté pendant 40 jours d'incubation (Mitchell *et al.*, 2013).

3.3.5 Sulfonamides

La sulfamethazine, à une concentration comprise entre 0,28 et 280 mg.L^{-1}, n'a pas d'influence sur le processus de méthanisation (Mitchell *et al.*, 2013).

Il en est de même pour le sulfamethoxazole entre 6 et 100 mg.L^{-1}.

Des concentrations de sulfonamide allant jusqu'à 235 mg.L^{-1} ont été retrouvées dans le lisier.

3.3.6 Oxytetracycline

Lors de la méthanisation de lisier de porc, il semble que l'oxytetracycline ne produise pas d'effet sur la méthanisation, les concentrations testées allant jusqu'à 250 mg.L^{-1} dans le substrat à méthaniser (Lallai *et al.*, 2002).

Chapitre 4

Expérimentations

4.1 Introduction

4.1.1 Contexte

Il a été exposé précédemment que des antibiotiques sont administrés aux animaux durant l'élevage, autant dans des buts curatifs que préventifs. Par conséquent, ces molécules, ainsi que leurs dérivés chimiques, sont retrouvés dans les déchets liés à élevage, et en particulier dans le lisier. Dans le cadre de la réutilisation de ce dernier comme substrat de méthanisation, il est primordial de s'assurer que l'ensemble des substances chimiques présentes dans le milieu n'aura pas d'influence néfaste sur la méthanisation. L'effet pourrait se situer à deux niveaux :

— Les antibiotiques peuvent inhiber la croissance bactérienne (effet bactériostatique) voire éliminer des bactéries (action bactéricide).

— Lors du processus de méthanisation, des réactions nombreuses et complexes interviennent. Les antibiotiques sont dégradés, partiellement ou totalement, en sous-produits par ces réactions. Ces derniers pourraient exercer un effet inhibiteur sur le processus.

Ces hypothèses auraient pour conséquence d'inhiber la méthanisation ou de la déséquilibrer, en ralentissant ou en empêchant certaines de ses étapes. Ainsi, cela conduirait à la baisse du rendement de méthanisation ou l'augmentation du temps de réaction, pour l'obtention d'une quantité équivalente de méthane, voire à l'interruption complète du processus.

4.1.2 Nature de l'étude

Des expérimentations ont été menées dans le cadre de l'équipe Sols et Eaux au Laboratoire Réactions et Génie des Procédés (LRGP) afin de déterminer si deux antibiotiques, la colistine et la streptomycine ont un effet inhibiteur sur la méthanisation du lisier bovin.

Ces deux antibiotiques ont été choisis car couramment utilisés dans l'élevage bovin, notamment à la ferme de la Bouzule, partenaire du LRGP.

La méthanisation mise en jeu est de type « batch », c'est-à-dire que les différents milieux réactionnels sont des réacteurs fermés, sans entrée ni sortie. Pendant toute la durée des expérimentations, la température est constante et de type mésophile, c'est-à-dire 37° C. Les expérimentations se dérouleront à un pH maintenu à une valeur de 7 grâce à l'introduction initiale d'une solution tampon.

4.2 Matériel et méthodes

4.2.1 Milieu réactionnel

La méthanisation est réalisée dans des bouteilles de 1 litre, partiellement remplies avec 100 grammes de lisier de vache et 400 mL de solution tampon à pH 7, permettant de maintenir ce pH durant toute la durée des expériences, et d'éventuellement l'un des deux antibiotiques à évaluer. Il n'est pas nécessaire d'ajouter un inoculum, étant donné que le lisier de vache, effluent à méthaniser, remplit également ce rôle (figure 4.2.1).

FIGURE 4.2.1 – Milieu réactionnel de méthanisation en batch

4.2.2 Approvisionnement et préparation du lisier

Le lisier provient de la ferme expérimentale « La Bouzule », appartenant à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires (ENSAIA), à Laneuvelotte, en Lorraine. Avant la collecte des échantillons, les animaux n'ont jamais reçu de traitement à base d'antibiotiques.

Des analyses préliminaires sont effectuées sur le lisier.

4.2.2.1 Détermination du taux de matière sèche

Pour déterminer le taux de matière sèche, un échantillon de 100 g est prélevé et pesé. Ensuite, celui-ci est placé dans un four à 105° C pendant 4 à 6 jours. Enfin, les échantillons sont de nouveau pesés. Le taux de matière sèche est calculé avec la formule suivante :

$$X_{ms} = \frac{m_{final}}{m_{initial}} \cdot 100 \tag{4.2.1}$$

FIGURE 4.2.2 – Détermination du taux de matière sèche

Il a ainsi été déterminé que le taux de matière sèche s'élève à 10,50 %.

4.2.2.2 Détermination du taux de matière organique

Pour réaliser ce test, l'échantillon résultat de l'étude précédente (détermination du taux de matière sèche) est pesé puis placé au four à 525° C pendant deux heures. Ceci a pour effet la combustion de la matière organique présente dans l'échantillon. L'échantillon est ensuite pesé. Le taux de matière organique est déterminé de manière analogue à la méthode précédente :

$$X_{org}=\frac{m_{final}}{m_{initial}}\cdot 100 \tag{4.2.2}$$

Le taux de matière sèche s'élève à 75,23 % dans la matière sèche et à 8,27 % dans la matière brute.

4.2.3 Préparation des solutions et des batchs

La préparation des batchs passe tout d'abord par la réalisation d'une solution tampon. Ceci permet de maintenir un pH de 7 dans le milieu réactionnel, notamment lorsque du gaz est produit une fois les expérimentations en cours. Ainsi, le pH est maintenu dans son intervalle de valeurs optimales pour la production de méthane (partie 1.4.1.3). Ensuite, 21 batchs ont été préparés, chacun dans un milieu réactionnel indépendant matérialisé par des bouteilles.

4.2.3.1 Préparation de la solution tampon

La préparation de 10 litres de solution tampon à pH 7 s'effectue en plusieurs étapes. Une masse de 68,04 grammes de poudre de dihydrogénophosphate de potassium KH_2PO_4 (Merck, Darmstadt, Allemagne) ont été ajoutés à de l'eau distillée pour préparer une solution aqueuse de 5 L de KH_2PO_4 de concentration 0,1 M. Ceci correspond à une concentration massique de 13,61 g/L.

Ensuite, une solution de 2,910 litres d'hydroxyde de sodium NaOH de concentration 0,1 M est préparée. Pour cela, 29,1 mL de solution de NaOH 10 M (Fisher Scentific UK Ltd., Loughborough, Angleterre) ont été prélevés et ajoutés à 2,881 L d'eau distillée.

Ces deux solutions ont ensuite été mélangées puis 2,090 L d'eau distillée a été ajouté.

La solution obtenue est une solution tampon de pH 7.

4.2.3.2 Définition des batchs

Pour chacun des deux antibiotiques, trois concentrations ont été testées. La concentration la plus faible correspond à la concentration théorique qui serait trouvée dans le lisier si les antibiotiques avaient été administrés à la totalité des bovins présents à la ferme, à des doses usuelles. La deuxième et la troisième concentration testée correspondent respectivement à dix fois et cent fois cette valeur initiale.

Les concentrations en colistine testées sont de 0.01, 0.1 et 1 $mg.L^{-1}$. Les concentration en streptomycine sont de 0.8, 8 et 80 $mg.L^{-1}$.

Trois batchs sont préparés pour chacunes de ces concentrations. Enfin, trois bouteilles supplémentaires ne contiennent aucune molécule inhibitrice. Ce sont les expériences témoin.

Les milieux réactionnels contenant de la colistine sont préfixés « C », ceux contenant la streptomycine « S » et les témoins « X ». Les trois concentrations sont symbolisées, dans l'ordre croissant, par les chiffres « 1 », « 2 » et « 3 ». Enfin les trois batchs identiques dans chaque cas sont notés « α », « β » et « γ ».

Designation	Antibiotique ajouté				
	Molécule	Concentration ($mg.L^{-1}$)	Masse nécessaire (mg)	Masse ajoutée (mg)	Pourcentage d'erreur
Xα	Aucune	0	0	0	0
Xβ	Aucune	0	0	0	0
Xγ	Aucune	0	0	0	0
C1α	Colistine	0.01	0.005	0.006	20
C1β	Colistine	0.01	0.005	0.006	20
C1γ	Colistine	0.01	0.005	0.005	0
C2α	Colistine	0.1	0.05	0.051	2
C2β	Colistine	0.1	0.05	0.05	0
C2γ	Colistine	0.1	0.05	0.05	0
C3α	Colistine	1	0.5	0.499	0.2
C3β	Colistine	1	0.5	0.497	0.6
$C3\gamma$	Colistine	1	0.5	0.498	0.4
S1α	Streptomycine	0.8	0.4	0.401	0.25
S1β	Streptomycine	0.8	0.4	0.4	0
S1γ	Streptomycine	0.8	0.4	0.398	0.5
S2α	Streptomycine	8	4	3.997	0.075
S2β	Streptomycine	8	4	4.004	0.1
S2γ	Streptomycine	8	4	3.999	0.025
S3α	Streptomycine	80	40	39.997	0.0075
S3β	Streptomycine	80	40	39.999	0.0025
S3γ	Streptomycine	80	40	40.002	0.005

Table 4.1 – Liste des batchs

4.2.3.3 Préparation des batchs

Tout d'abord, le lisier est porté à température ambiante. Ensuite, 100 mg de lisier sont ajoutés dans chaque bouteille. La solution tampon est à ce moment incorporée en deux volumes de 100 et 200 mL. Les antibiotiques à ajouter à chaque batch sont ensuite mélangés à 100 mL de solution tampon, qui sont ensuite ajoutées au milieu réactionnel.

Pour éliminer la présence de gaz dans le milieu réactionnel, les bouteilles sont inertées à l'azote. L'oxydation du milieu réactionnel aurait plusieurs effets non désirés sur la méthanisation. Tout d'abord, les réactions aérobies dégraderaient le milieu réactionnel, et la baisse de production de méthane qui en résulterait pourrait à tort être attribuée à la présence des antibiotiques. Ensuite, des produits secondaires pourraient se former, notamment provenant de la dégradation des antibiotiques, et ceux-ci pourraient d'une part

influer sur la cinétique du processus de méthanisation, et d'autre part être considérés à tort comme des sous-produits de la digestion anaérobie.

L'azote est un gaz inerte et possède une influence négligeable sur la méthanisation. Cette solution est mise en oeuvre dans la plupart des études concernant la méthanisation (Lallai *et al.*, 2002; Mitchell *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2014).

Les bouteilles sont ensuite placées en étuve 37 °C.

FIGURE 4.2.3 – Batchs placés en étuve à 37 °C

4.2.3.4 Calibration de la fraction volumique en méthane et dioxyde de carbone

Comme présenté ci-dessous, l'analyse du biogaz produit s'effectue à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse. Il faut préalablement injecter des volumes connus en biogaz d'intérêt (dioxyde de carbone et méthane) afin de corréler linéairement l'aire sous la courbe mesurée en-dessous des pics caractéristiques de ces gaz, et le volume présent dans le milieu.

Quatre échantillons de méthane, dioxyde de carbone, dihydrogène et sulfure d'hydrogène purs sont injectés. Les réponses obtenues sont présentées en annexes.

4.2.4 Relevés et mesures effectuées durant l'expérimentation

Les relevés effectués durant la durée de l'expérimentation concernent à la fois le volume de gaz produit et sa composition.

Le jour de la préparation des batchs correspond au jour 0. Des mesures ont ensuite été effectuées jusqu'au jour 171. Chaque opération décrite ci-dessous est répétée sur l'ensemble des bouteilles. L'ensemble des mesures obtenues sont présentées en annexes.

Comme rappelé partie 1.4.2.5, le temps de séjour moyen habituellement mis en oeuvre est d'un à deux mois. Dans cette étude et dans le but d'étudier la production de méthane au-delà de cette période, la méthanisation dans les batchs sera étudiée durant 90 jours.

4.2.4.1 Volume de biogaz produit

Pour mesurer le volume de gaz produit, une méthode volumique est utilisée. Préalablement, une solution d'acide chlorhydrique à pH 4 est utilisée. Ceci est nécessaire pour que le dioxyde de carbone présent dans le gaz ne se dissolve pas dans l'eau.

Les réactions suivantes se produisent lorsque le CO_2 gazeux entre en présence d'eau :

$$\begin{cases} CO_2(g) \rightarrow CO_2(dissout) \\ CO_2(dissout) + H_2O \rightarrow H_2CO_3 \\ H_2CO_3 \rightarrow H^+ + HCO_3^- \end{cases} \tag{4.2.3}$$

Le pKA du couple $H_2CO_3^-/HCO_3^-$ est de 6.3. Il faut donc se situer à un pH inférieur pour favoriser la réaction dans le sens inverse, c'est-à-dire vers $H_2CO_3^-$.

Cette solution est préparée à l'aide d'acide chlorhydrique concentré (34-37%, Fisher Scientific UK Ltd, Loughborough, Angleterre) et d'eau distillée.

La mesure s'effectue à l'aide d'une éprouvette graduée de 250 mL et d'un récipient. L'éprouvette est remplie de solution d'acide chlorhydrique à pH 4, ainsi que le fond du récipient. L'éprouvette est placée, ouverture vers le bas, dans le récipient. Le liquide ne s'écoule donc pas de l'éprouvette.

L'extrémité d'un tuyau flexible est placé entre le fond du récipient et l'éprouvette. A l'autre extrémité de ce tuyau est fixée une aiguille. Celle-ci est plantée à travers le bouchon en caoutchouc de la bouteille, jusqu'à atteindre sur quelques millimètres le ciel gazeux. Etant donné la différence de pression qui s'établit, le gaz chasse alors la solution

d'acide clorhydrique et se retrouve piégé dans l'éprouvette, au-dessus du liquide. Une lecture est ensuite effectuée à l'aide des graduations (figure 4.2.4).

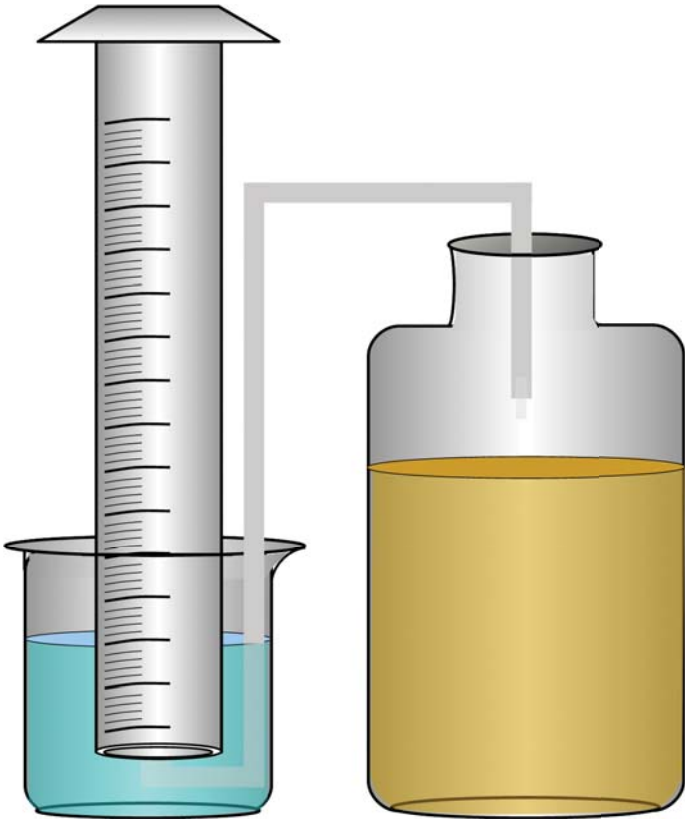


FIGURE 4.2.4 – Méthode de mesure des volumes de biogaz dans les batchs

4.2.4.2 Composition du biogaz produit

Après avoir mesuré le volume de gaz produit, sa composition est déterminée pour chaque batch à l'aide de chromatogrammes, réalisés par chromatographie en phase gazeuse.

L'échantillon est entrainé le long d'une colonne capillaire à l'aide d'une phase mobile, appelé gaz vecteur. Un chromatographe comprend cinq grandes parties :

— Le four : il contient la colonne. Il permet de chauffer la colonne à une température déterminée, afin de séparer au mieux les molécules de l'échantillon.
— La colonne : elle contient une phase stationnaire. Un équilibre s'établit entre les molécules de l'échantillon et celles de la phase stationnaire.
— Le gaz vecteur : il permet l'avancée de l'échantillon dans la colonne. Ce gaz est le plus souvent de l'hydrogène, de l'hélium ou de l'azote.

— L'injecteur : il peut être destiné aux colonnes à remplissage ou aux colonnes de type capillaires. Dans le cas du LRGP, l'injecteur est destiné aux colonnes de type capillaire. Cet élément va effectuer l'injection du produit dans la colonne. Ces injecteurs présentent une bonne reproductibilité de l'injection et une moins grande exposition de l'échantillon aux températures élevées.
— Le détecteur : il permet de détecter les différentes molécules. La quantité de molécules détectées est ensuite transformée en signaux électriques, ce qui constituera ensuite le chromatogramme qui expose ces pics de sortie aux différents temps dits de rétention. Un détecteur peut être « à conductivité thermique », « à ionisation de flamme » ou sélectif. Le chromatographe du LRGP est équipé d'un détecteur à conductivité thermique, moins sensible que d'autres détecteurs, mais qui est non spécifique et surtout non destructif.

Lorsqu'une molécule sort de la colonne et est repérée par le détecteur, un pic se forme sur le chromatogramme. Ce pic est principalement caractérisé par son temps de rétention, c'est-à-dire le temps entre l'injection et la sortie de la molécule. Pour séparer correctement les différentes molécules d'un échantillon, il faut mettre au point une méthode comprenant notamment un ou plusieurs couples temps-température. Les temps de rétention obtenus seront uniquement valables pour cette méthode.

Le chromatographe VARIAN 430GC est constitué des éléments suivants :

— Colonne capillaire de type Carboplot, d'un diamètre de 530 micromètres
— Gaz vecteur : argon
— Injecteur : 1041 OnColumn Injector
— Détecteur : TCD (Thermal Conductivity Detector)

La méthode dure 5 minutes 30. Le gradient de température est appliqué ; il a pour rôle de permettre une séparation nette entre les différents constituants. La température est stable à 60 °C pendant deux minutes puis augmente de manière linéaire pour atteindre 120 °C à 5 minutes 30.

L'appareil est couplé à un système informatique d'acquisition et de traitement des données. Le système d'injection est de type manuel, à l'aide d'un septum. Une seringue de 1 mL est utilisée pour prélever un échantillon de gaz, qui est ensuite injecté dans le chromatographe, en tête de colonne.

Les principaux gaz recherchés sont : CH_4, CO_2, N_2 et H_2.

(a) Varian 340-GC (b) Ordinateur et logiciel d'acquisition et de traitement des données

FIGURE 4.2.5 – Appareillage de chromatographie en phase gazeuse

4.2.4.3 Traitement des résultats

A chaque relevé de volume de biogaz, le volume cumulé pour chaque batch, depuis le début des expérimentations, est calculé à l'aide d'un tableur. Ensuite, une moyenne est effectuée entre les trois batchs, dont le milieu réactionnel initial est identique.

4.3 Résultats et intepretation

L'étude des résultats s'effectuera tout d'abord au niveau des témoins, puis successivement par la comparaison de ceux-ci avec les batchs contenant de la colistine et de la streptomycine.

Pour ces deux antibiotiques, après avoir tracé le volume global cumulé de biogaz obtenu, nous étudierons l'évolution du volume de méthane produit tout au long de l'expérience, étant donné qu'il s'agit du gaz d'intérêt dans la méthanisation. Ensuite, les fractions volumiques de méthane dans le biogaz seront représentées en fonction du temps pour chaque concentration en antibiotiques, puis simultanément pour les trois concentrations et pour le témoin. Ceci permettra de déterminer si l'éventuelle diminution de volume de méthane produit est correlée à un appauvrissement du biogaz en ce gaz.

Enfin, l'évolution des fractions en dioxyde de carbone, dihydrogène et azote sera discuté.

4.3.1 Batchs témoins

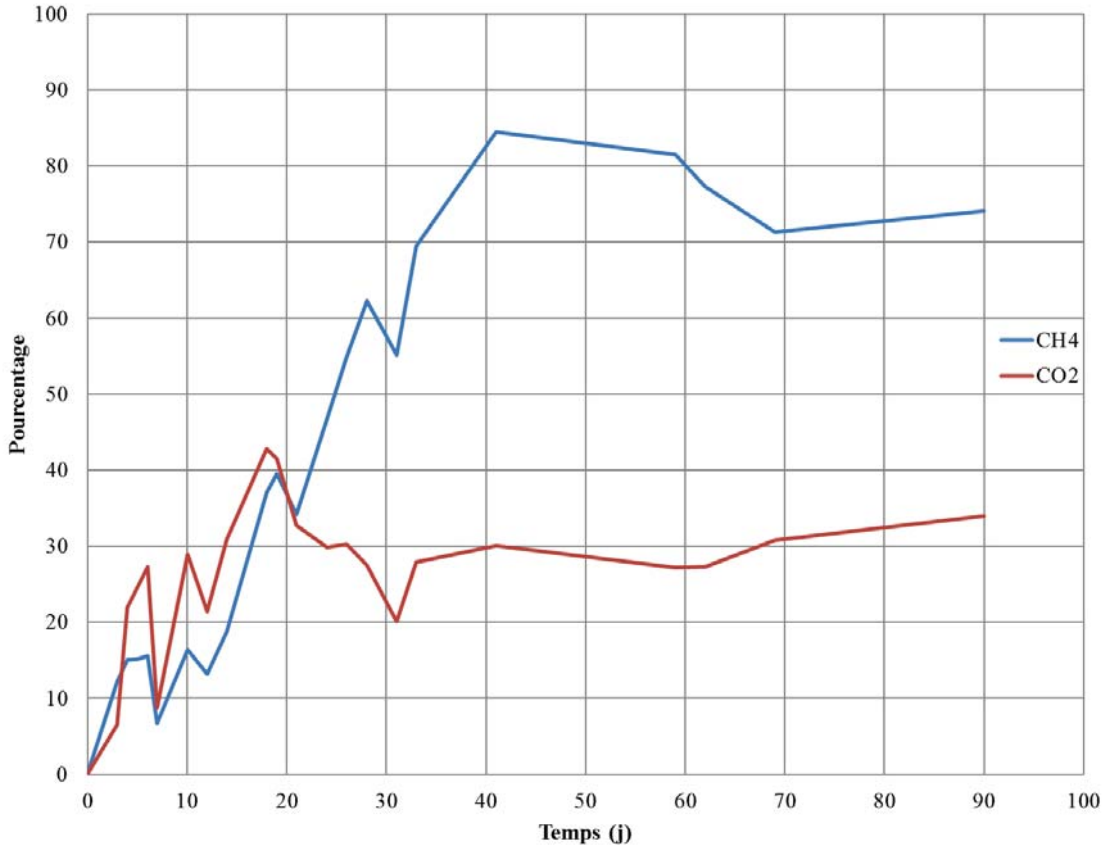


FIGURE 4.3.1 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone dans les batchs témoins

Dans les batchs témoins, la concentration en méthane augmente de manière relativement homogène jusqu'au 41ème jour où un pic est atteint pour une fraction volumique en méthane d'environ 84%. (figure 4.3.1). Elle diminue ensuite lentement jusqu'au 70ème jour, puis remonte jusqu'au 90ème jour. La valeur finale se stabilise autour de 70 % de volume en méthane et de 30 % de dioxyde de carbone au 70ème jour.

Dans ces mêmes batchs, la fraction volumique en dioxyde de carbone augmente jusqu'au 18 ème jour pour atteindre 42% en volume puis diminue jusqu'au 31ème jour pour ensuite se stabiliser jusqu'au 90ème jour autour de 33%.

Les valeurs obtenues sur ces batchs témoins rappellent les compositions usuelles du biogaz trouvées dans la littérature, présentées dans le chapitre I :

— 50 à 75 % de méthane
— 25 à 50 % de dioxyde de carbone

4.3.2 Batchs contenant de la colistine

4.3.2.1 Volumes de biogaz et de méthane produits

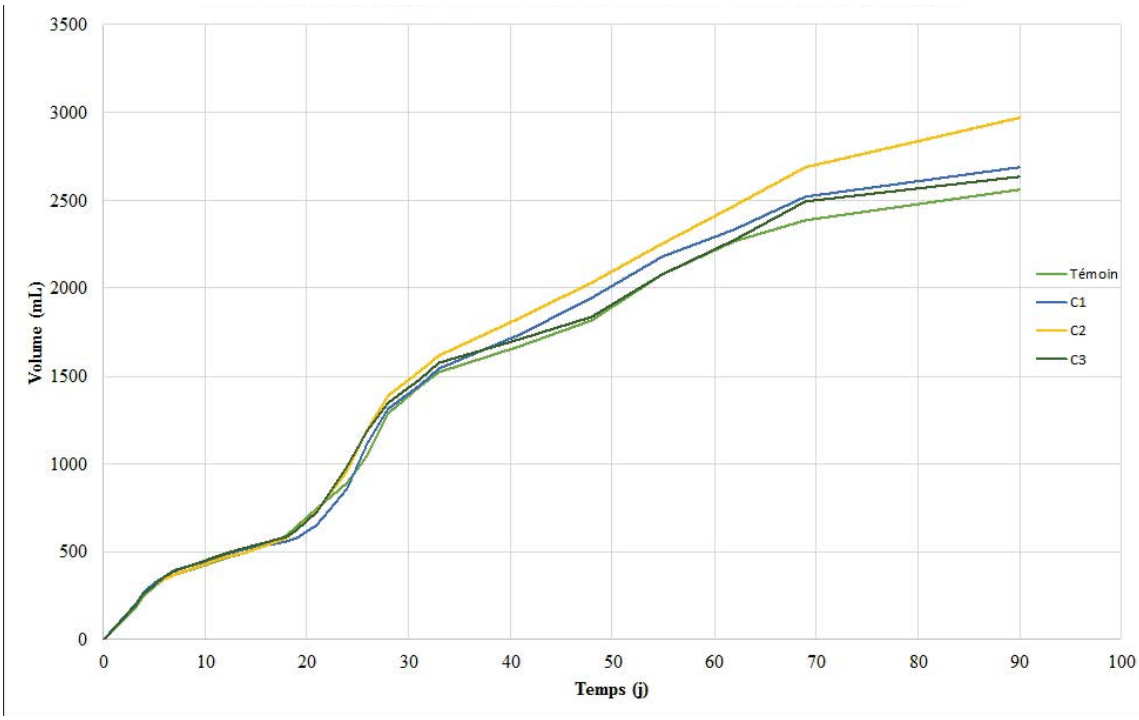


FIGURE 4.3.2 – Volumes de biogaz en fonction du temps pour les batchs contenant de la colistine

Le volume de biogaz cumulé obtenu pour chaque concentration en colistine est tracé figure 4.3.2.

Pour chaque concentration en antibiotiques, le volume de biogaz obtenu est multiplié par la fraction molaire en CH_4 et l'évolution du volume de méthane produit est représenté en fonction du temps (figure 4.3.3).

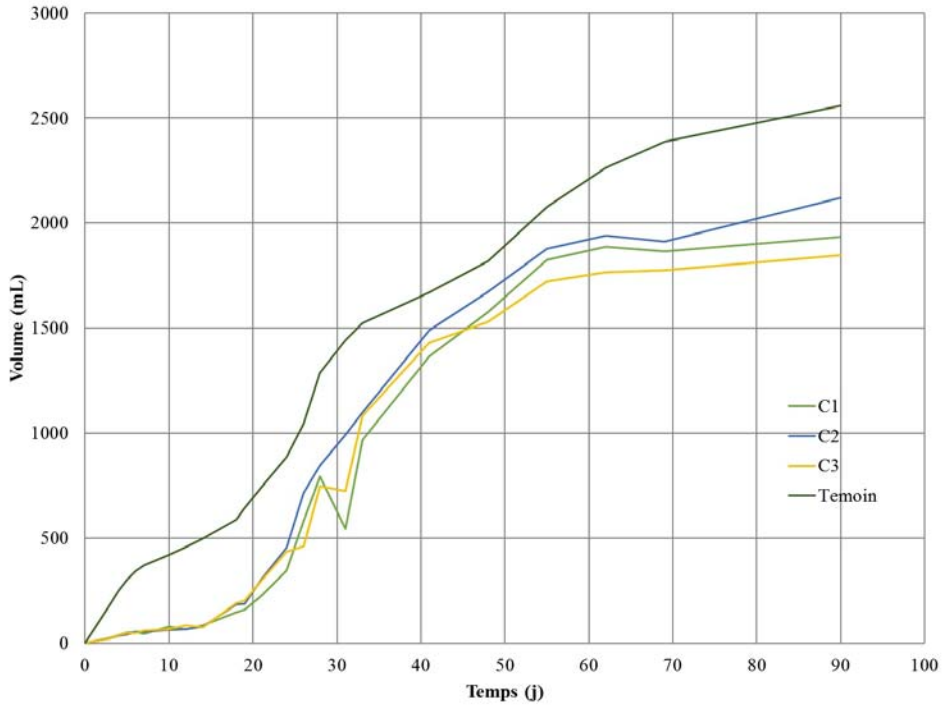


FIGURE 4.3.3 – Volumes de méthane en fonction du temps pour les batchs contenant de la colistine

En ce qui concerne la colistine, les volumes de biogaz produits en fonction du temps sont peu variants selon les concentrations en antibiotique. Le volume produit est d'environ 1000 mL à 30 jours, et atteindra environ 2000 mL pour les échantillons contenant de la colistine à 90 jour et 2500 mL pour le témoin. La production de méthane est importante les trois premiers jours, puis du jour 18 à 33. Elle est ensuite moindre puis tendra vers une valeur limite. La vitesse de prolifération bactérienne pourrait être responsable de cette évolution de la cinétique.

4.3.2.2 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone

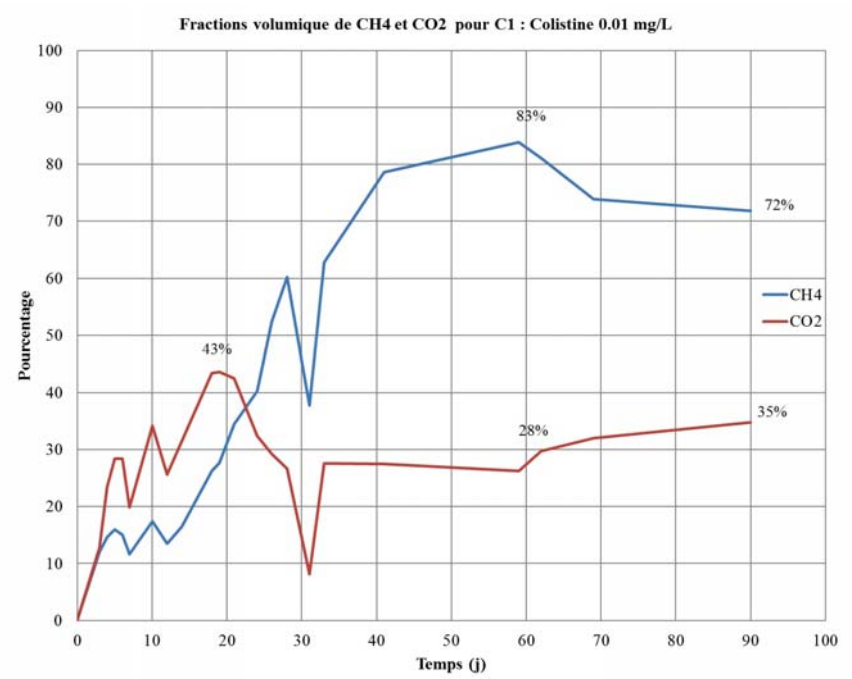


FIGURE 4.3.4 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en colistine de 0,01 mg/L (C1)

Dans les batchs contenant une concentration de 0,01 mg/L de colistine, la fraction volumique en méthane augmente pour atteindre 79 % au 41 ème jour puis 83 % au 60 ème jour. Cette valeur diminue ensuite lentement pour osciller autour de 72% à partir du 70 ème jour, et ceci jusqu'en fin d'expérience (figure 4.3.4).

La fraction volumique en dioxyde de carbone augmente jusqu'au 18ème jour pour atteindre 43% puis diminue jusqu'au 60ème jour jusqu'à 28%. Elle remonte ensuite lentement jusqu'au 90 ème jour pour atteindre environ 35%.

Une brusque diminution de la quantité de ces deux gaz est détectée au 31ème jour. Ce point expérimental pourrait être mis pour le compte d'un biais établi lors de l'injection, probablement par un moindre volume injecté.

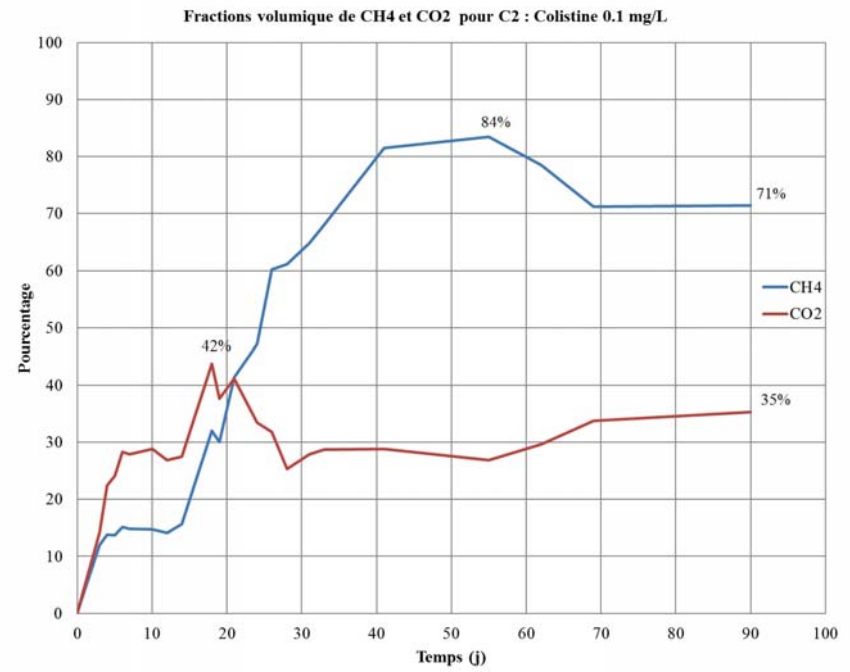


FIGURE 4.3.5 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en colistine de 0,1 mg/L (C2)

En ce qui concerne les batchs contenant 0,1 mg/L de colistine, la fraction volumique en colistine augmente jusqu'au 41ème jour où elle atteint une valeur d'environ 84%. Elle diminue ensuite pour atteindre 71% à partir de 70 jours figure 4.3.5.

La fraction volumique en dioxyde de carbone augmente jusqu'au 18ème jour pour atteindre 42% puis diminue et remonte légèrement jusqu'à 35% en fin d'expérience.

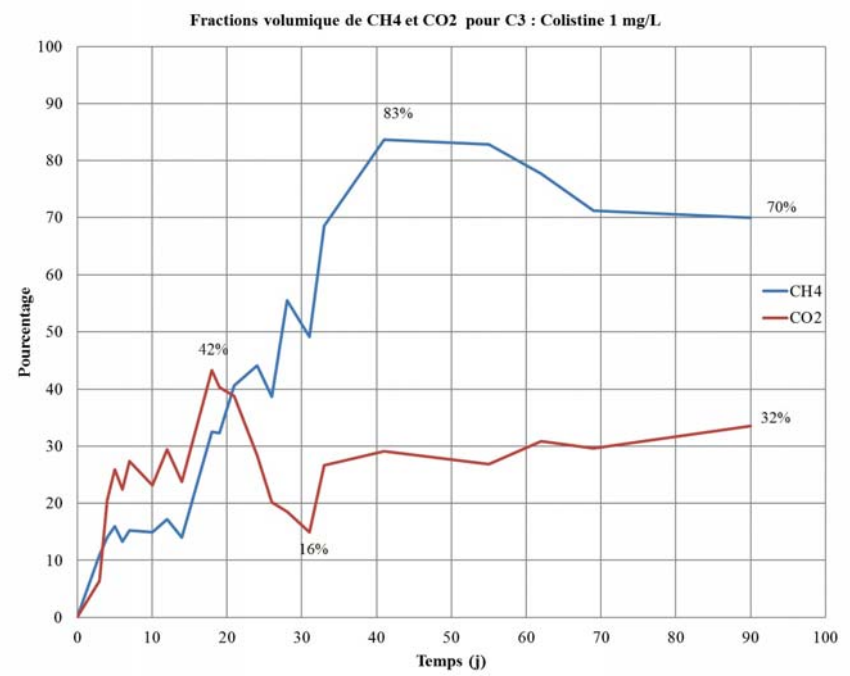


FIGURE 4.3.6 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en colistine de 1 mg/L (C3)

Les batchs contenant une concentration en colistine de 1 mg/L permettent de constater que la fraction en méthane augmente jusqu'au 41 ème jour où elle atteint 83% en volume, puis diminue pour atteindre 70% à partir de 70 jours (figure 4.3.6).

La concentration en dioxyde de carbone augmente pour atteindre un pic à 42% en volume au 19 ème jour puis diminue entre les jours 19 et 31 pour atteindre 16%. Cette brusque diminution de la fraction volumique en CO_2 peut être expliquée par l'importante production de méthane par les bactéries qui se produit à cette période.

Ensuite, les fractions volumiques en méthane en fonction du temps sont représentées sur un même graphique pour toutes les concentrations de colistine et pour le batch témoin (figure 4.3.7).

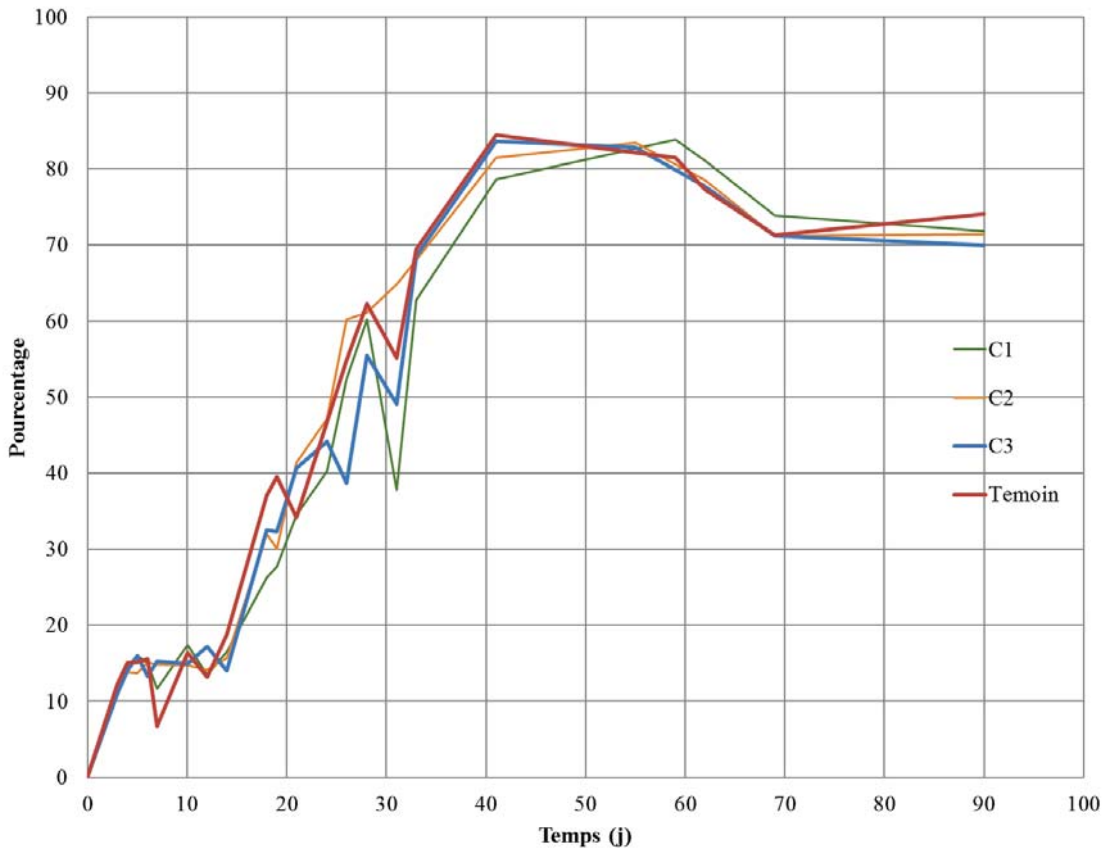


FIGURE 4.3.7 – Fractions volumiques de méthane en fonction de la concentration en colistine

Au regard de ce graphique, la fraction volumique en méthane :

— Atteint au maximum pour chaque concentration en antibiotique une fraction volumique en méthane proche d'environ 81%, ce qui est semblable aux valeurs du témoin
— Possède une cinétique équivalente : les pentes d'augmentation et de diminution sont semblables pour chaque concentration en colistine, et semblables au témoin
— Se stabilise toutes à environ 72%.

La colistine ne semble donc pas avoir d'effets significatifs sur la cinétique de la méthanisation aux concentrations testées. Les volumes de méthane produits au bout de 90 jours sont légèrement inférieurs au témoin mais les résultats obtenus ne sont pas proportionnels à la concentration en colistine présent dans le milieu. Un effet inhibiteur de la colistine sur la méthanisation aux concentrations testées n'est donc pas formellement démontré ici.

4.3.2.3 Fractions volumiques en dioxyde de carbone, en dihydrogène et en azote

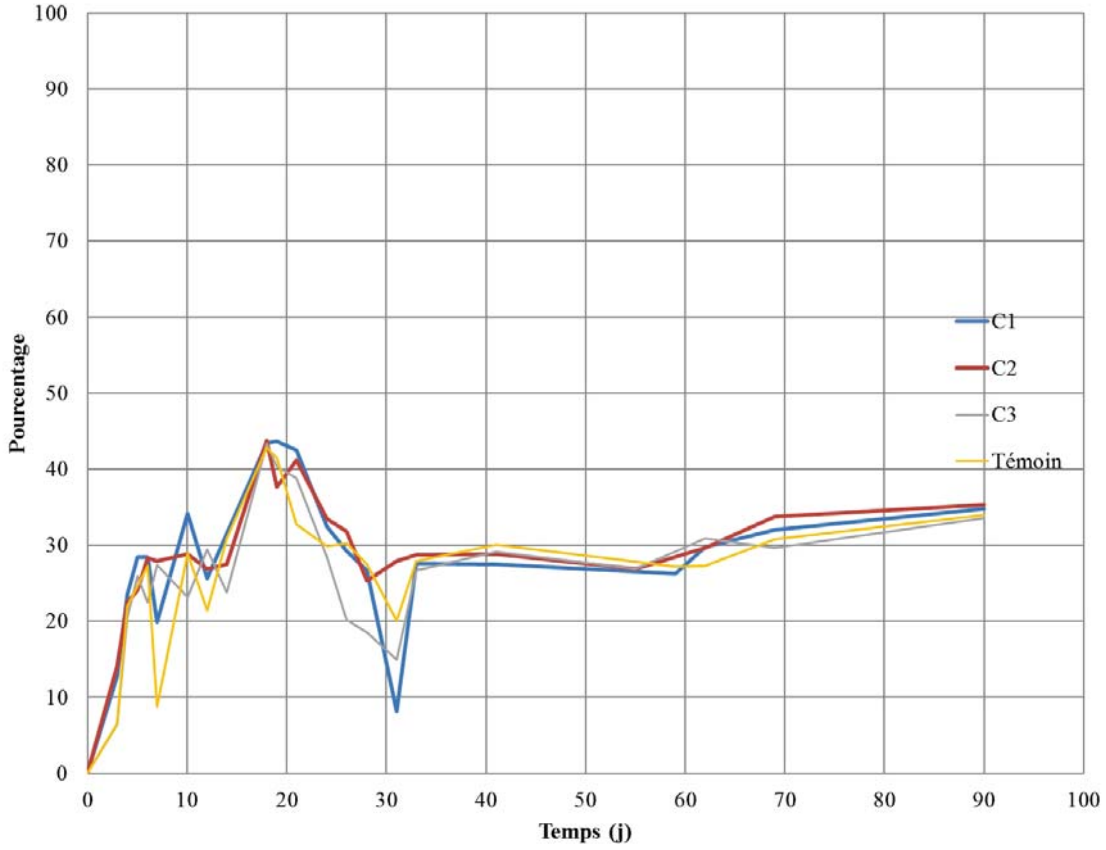


FIGURE 4.3.8 – Fractions volumiques de dioxyde de carbone en fonction de la concentration en colistine

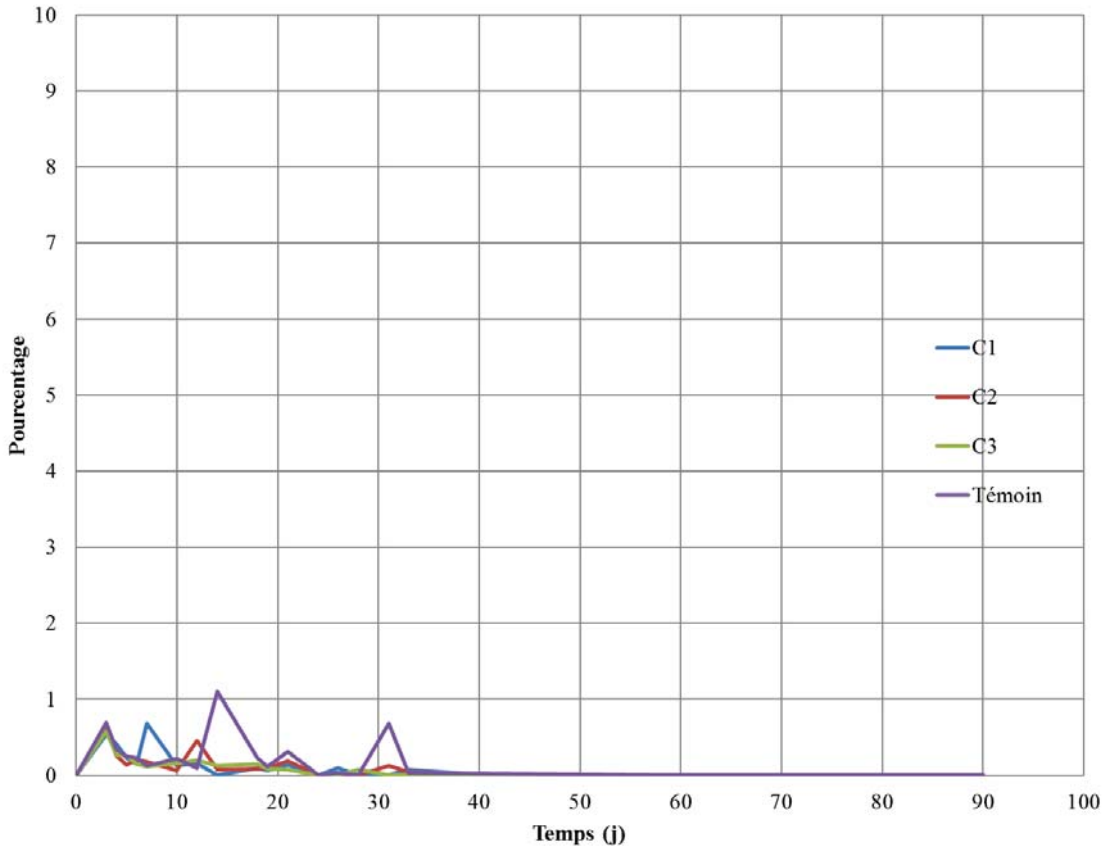


FIGURE 4.3.9 – Fractions volumiques de dihydrogène en fonction de la concentration en colistine

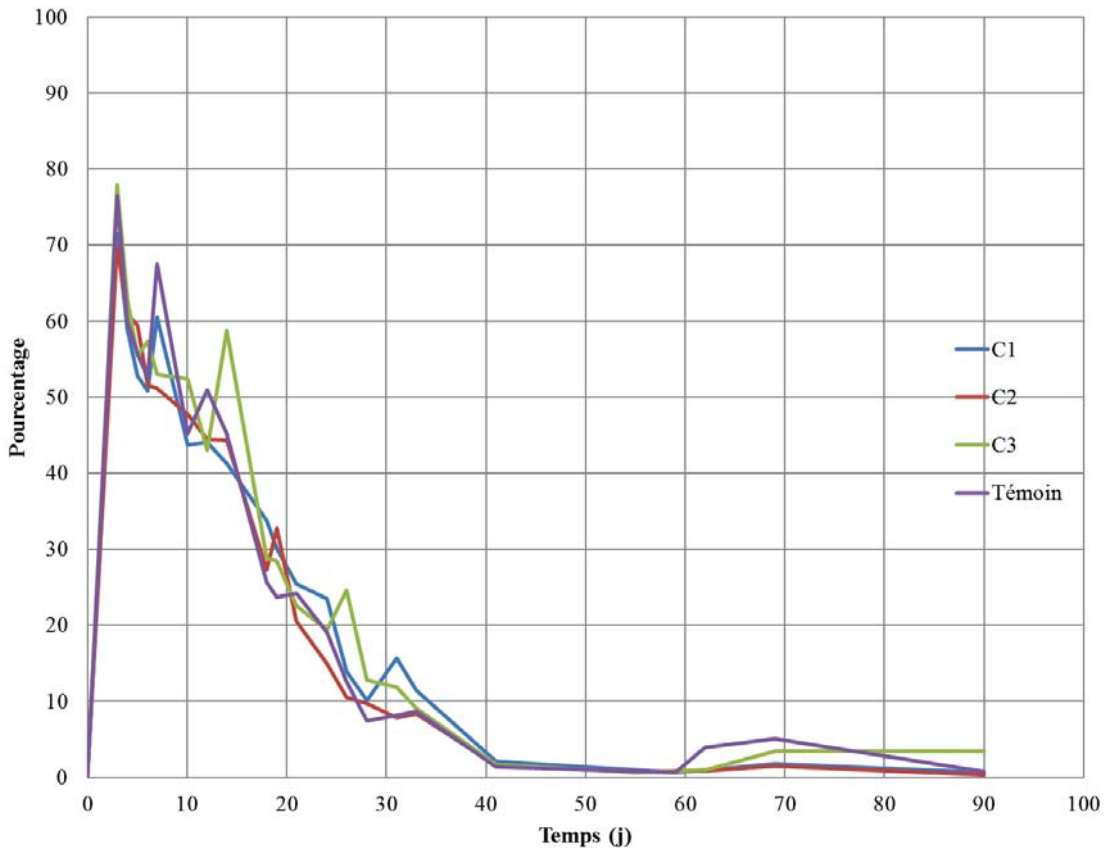


FIGURE 4.3.10 – Fractions volumiques de diazote en fonction de la concentration en colistine

Comme cela a été effectué dans le cas du méthane, les fractions volumiques en dioxyde de carbone, en dihydrogène et en azote sont tracées sur un même graphique pour les trois concentrations, ainsi que pour le témoin :

— Fraction volumique en CO_2 selon la concentration en colistine (figure 4.3.8)
— Fraction volumique en H_2 selon la concentration en colistine (figure 4.3.9)
— Fraction volumique en N_2 selon la concentration en colistine (figure 4.3.10)

La fraction volumique en azote est très élevée au départ, dans l'ensemble des batchs. En effet, le milieu est inerté à l'azote. Cette fraction diminuera drastiquement durant les premiers jours, ce qui est cohérent avec l'augmentation de volume de biogaz produit.

La production d'hydrogène est très faible dans l'ensemble des batchs. Elle est maximale jusqu'au 30 ème jour puis cette production s'arrête quasiment ensuite. Elle atteint au maximum 1,85% au 4ème jour dans les bouteilles contenant 80 mg/L de streptomycine.

4.3.3 Batchs contenant de la streptomycine

4.3.3.1 Volumes de biogaz et de méthane produits

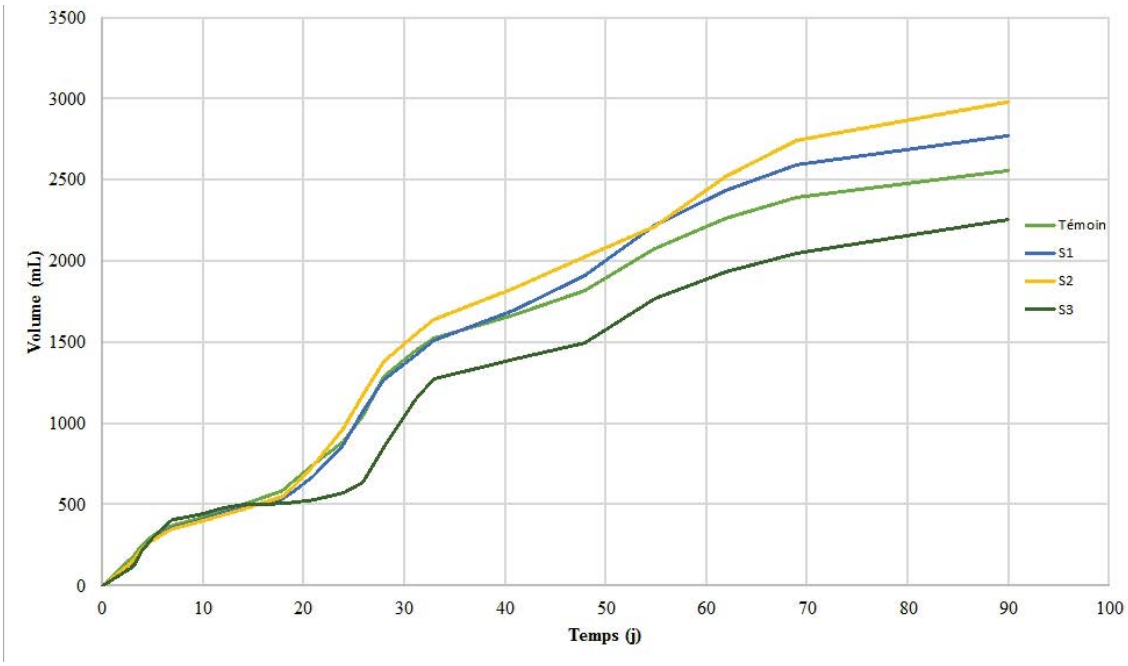


FIGURE 4.3.11 – Volumes de biogaz en fonction du temps pour les batchs contenant de la streptomycine

Le volume de biogaz cumulé obtenu pour chaque concentration en streptomycine est tracé (figure 4.3.11).

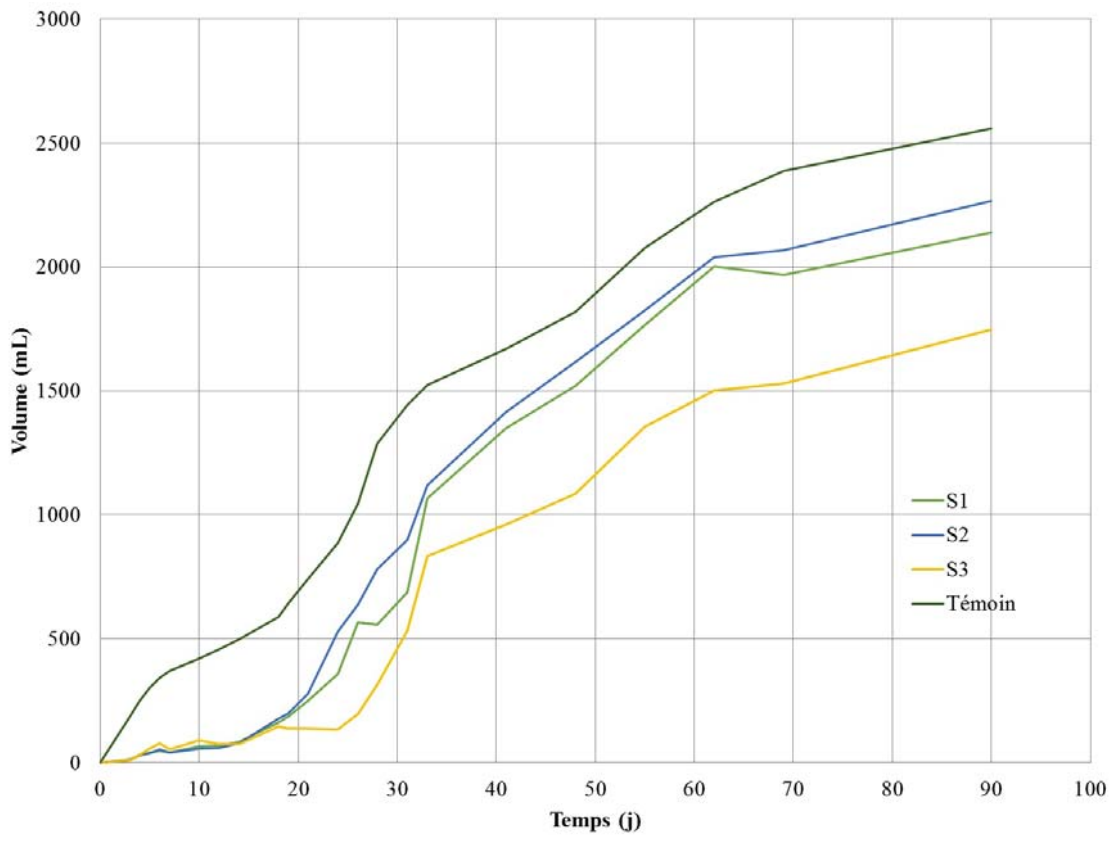


FIGURE 4.3.12 – Volumes de méthane en fonction du temps pour les batchs contenant de la streptomycine

Le volume cumulé de méthane produit pour les batchs contenant les trois concentrations en streptomycine, ainsi que le témoin, sont tracés. Les courbes sont toutes croissantes, la pente étant plus importante les 3 premiers jours, ainsi qu'entre le 15 ème et le 35 ème jour (environ 75 mL par jour de méthane produit dans les bouteilles témoins durant cette période). Le volume cumulé pour les batchs témoin est durant toute l'expérience supérieure aux batchs contenant de la streptomycine et atteindra environ 2500 mL en fin d'expérience. Les batchs contenant 0,8 mg/L et 8 mg/L de streptomycine ont une allure similaire, et le volume final produit sera d'environ 2100 mL. Enfin, les flacons comprenant 80 mg/L de streptomycine auront produit un volume moyen de biogaz de 1700 mL. Cette dernière valeur est très inférieure à ce qui a été observé dans les autres batchs, et notamment en comparaison avec le témoin. Au final, au 90ème jour, la différence de volume de méthane produit entre le témoin et respectivement les batchs S1, S2 et S3 est de 250, 350 et 800 mL.

Au vu de ces résultats, nous pouvons avancer l'hypothèse que la streptomycine possède un impact sur le volume de méthane produit, en particulier à des concentrations

élevées, supérieures à 80 mg/L.

4.3.3.2 Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone

Pour chacune des concentrations en streptomycine, ainsi que pour les batchs témoins, l'évolution de la fraction volumique en méthane en fonction du temps est tracée.

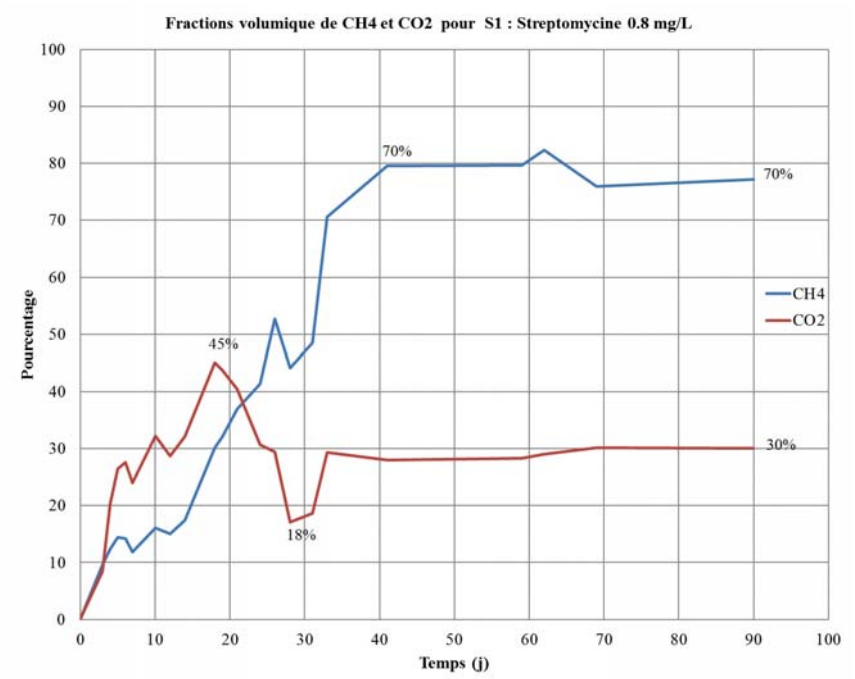


FIGURE 4.3.13 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en streptomycine de 0,8 mg/L (S1)

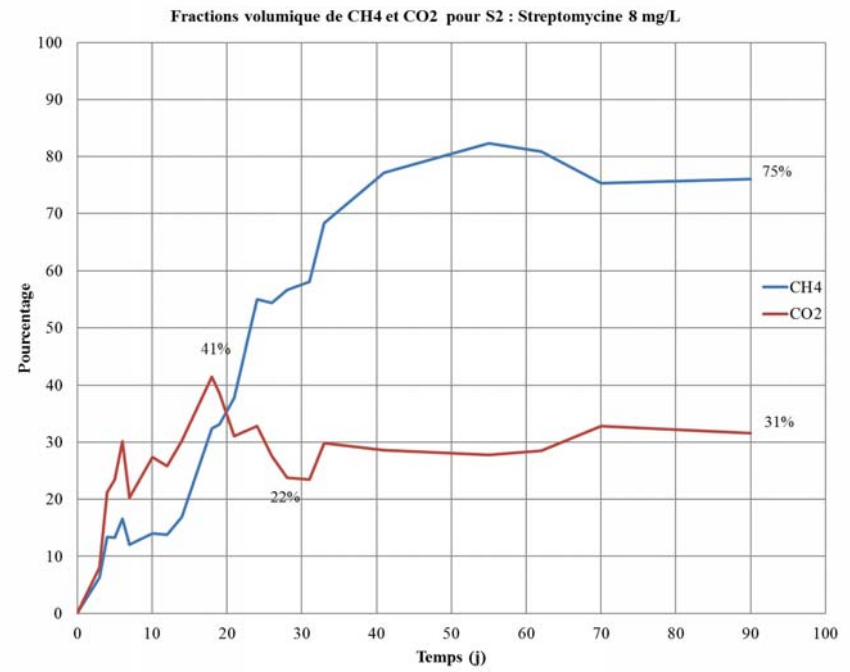


FIGURE 4.3.14 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en streptomycine de 8 mg/L (S2)

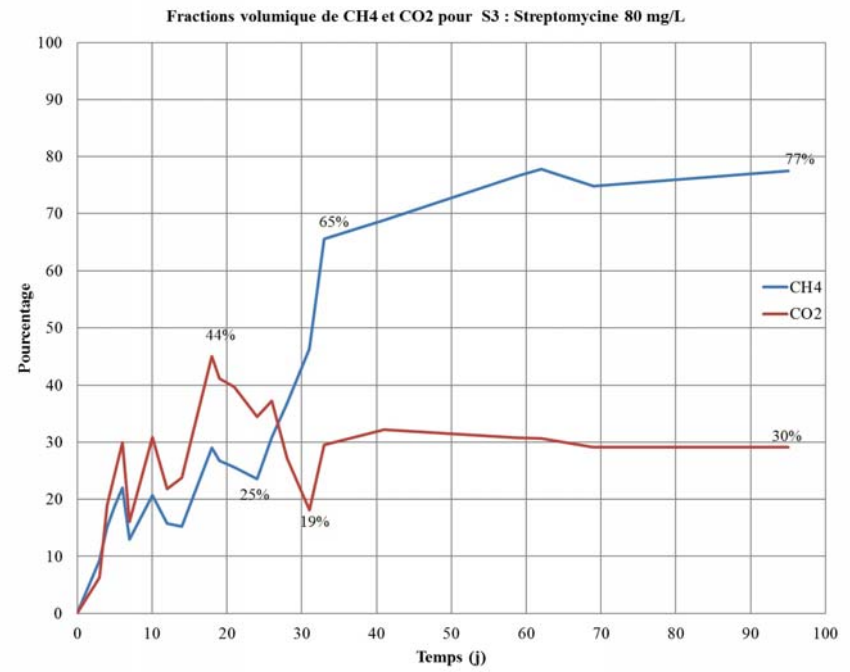


FIGURE 4.3.15 – Fractions volumiques de méthane et de dioxyde de carbone pour une concentration en streptomycine de 80 mg/L (S3)

Tout d'abord, en ce qui concerne les batchs S1 contenant 0,8 mg/L de streptomycine, la fraction volumique en méthane augmente jusqu'au 41 ème jour pour atteindre 80% puis se stabilise jusqu'au 59 ème jour, où elle montera brièvement à 82% dans les 5 jours qui suivent pour ensuite diminuer et se stabiliser à 78% en fin d'expérimentation (figure 4.3.13).

La fraction volumique en dioxyde de carbone augmente pour atteindre un pic au 18 ème jour d'environ 45%. Elle diminue ensuite jusqu'au 28 ème jour pour atteindre 18% puis remonte légèrement pour atteindre 30% à 70 jours et s'y stabiliser jusqu'en fin d'expérience.

La fraction volumique en méthane dans les batchs S2 contenant 8 mg/L de streptomycine augmente de manière importante, de manière similaire à ce qui était observé sur les courbes précédentes pour atteindre 69% au jour 34. Elle augmente ensuite plus lentement jusqu'au 55 ème jour pour atteindre un maximum de 83% puis diminuera jusqu'au 70 ème jour à 75%. Elle sera ensuite stabilisée à cette valeur jusqu'en fin d'expérience.

La fraction volumique en dioxyde de carbone augmente jusqu'au 18 ème jour pour atteindre 41%. Elle diminue ensuite jusqu'au 27 ème jour à 22% en volume, et remontra légèrement pour se stabiliser à 31% en fin d'expérience (figure 4.3.14).

Enfin, en ce qui concerne les bouteilles S3, c'est-à-dire une concentration en streptomycine de 80 mg/L, la fraction volumique en méthane augmente légèrement jusqu'au 25ème jour où elle atteindra 25% en volume. Ensuite, elle augmente de manière plus importante, de manière analogue à ce qui a été décrit précédemment, jusqu'au 32 ème jour, pour atteindre une valeur de 65%. Elle augmentera ensuite lentement jusqu'au 62ème jour pour atteindre 78%. Cette valeur diminuera légèrement et sera retrouvée en fin d'expérience (figure 4.3.15).

La fraction volumique en dioxyde de carbone augmente jusqu'à 44% au 18 ème jour, puis diminue jusqu'à 19 % au 31 ème jour. Elle remontra ensuite brusquement à 32% sur les 10 jours qui suivent pour se stabiliser à environ 30%.

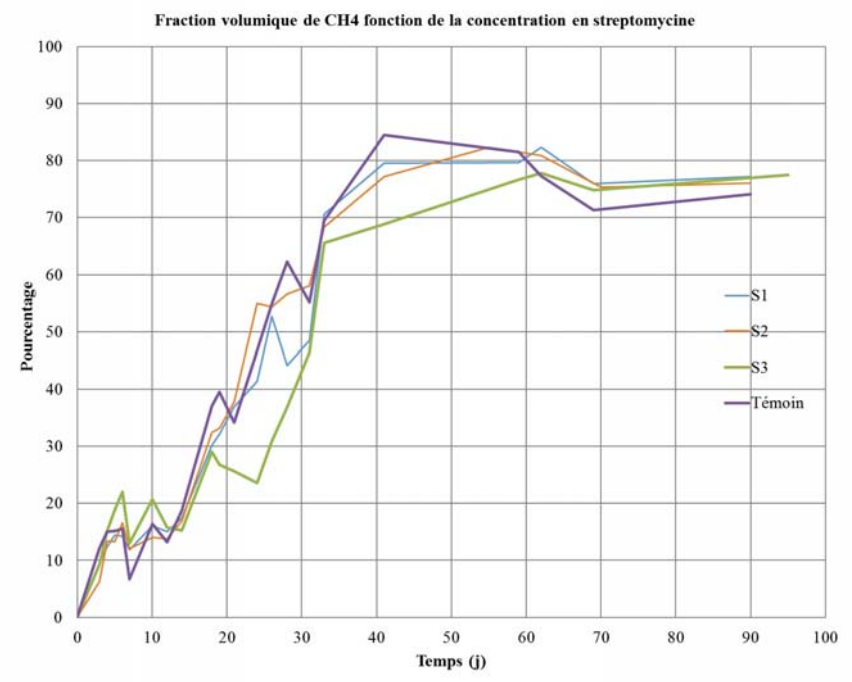


FIGURE 4.3.16 – Fractions volumiques de méthane en fonction de la concentration en streptomycine

Les fractions volumiques de méthane pour les trois concentrations de streptomy-

cine étudiées, ainsi que le témoin, sont tracées sur un même graphique (figure 4.3.16).

D'après ces résultats, la fraction volumique en méthane :

— Produit un maximum de 84 % pour le batch témoin, de 79 % pour la bouteille S1 contenant 0,8 mg/L de streptomycine, 84 % pour le batch contenant 8 mg/L de streptomycine et 77 % pour 80 mg/L de streptomycine
— Possède une cinétique différente selon la concentration en streptomycine : les bouteilles témoins atteignent en moyenne un maximum au 41ème jour. Les batchs S1 à 0,8 mg/L de streptomycine produisent un pic également au 41ème jour. Les batchs S2 à 8 mg/L de streptomycine induisent une production de méthane jusqu'au 54 ème jour. Enfin 80 mg/L de streptomycine produit un pic à 62 jours.
— Se stabilisent pour tous les batchs à environ 75 %

D'après ces résultats, il semble donc que la concentration en streptomycine ait un impact sur la fraction en méthane du biogaz produit : bien que celle-ci soit similaire en fin d'expérience, elle semble augmenter de manière plus lente et avec un retard proportionnel à la concentration en streptomycine du milieu réactionnel. D'après les courbes représentant le volume de biogaz en fonction du temps présentées ci-dessus, la majorité du biogaz est produit entre les jours 18 à 70, avec une production maximale jusqu'au 28 ème jour.

Etant donné les fractions volumiques décroissantes en méthane en fonction de la concentration en streptomycine durant cette période, la cinétique de la méthanisation est ralentie : plus la concentration en streptomycine est importante, plus la production de méthane est lente.

En ce qui concerne la streptomycine, les résultats obtenus confirment les hypothèses énoncées plus haut. En particulier, la production de méthane en présence de la concentration maximale en streptomycine montre clairement une méthanisation retardée dans le temps (environ 20 jours après le témoin pour la plus grande concentration étudiée) et un volume de méthane produit très amoindri.

Il semble donc, qu'en plus de ralentir le processus aux concentrations étudiées les plus faibles (0,8 et 8 mg/L), la streptomycine diminue le rendement de la méthanisation à 80 mg/L.

4.3.3.3 Fractions volumiques en dioxyde de carbone, en dihydrogène et en azote

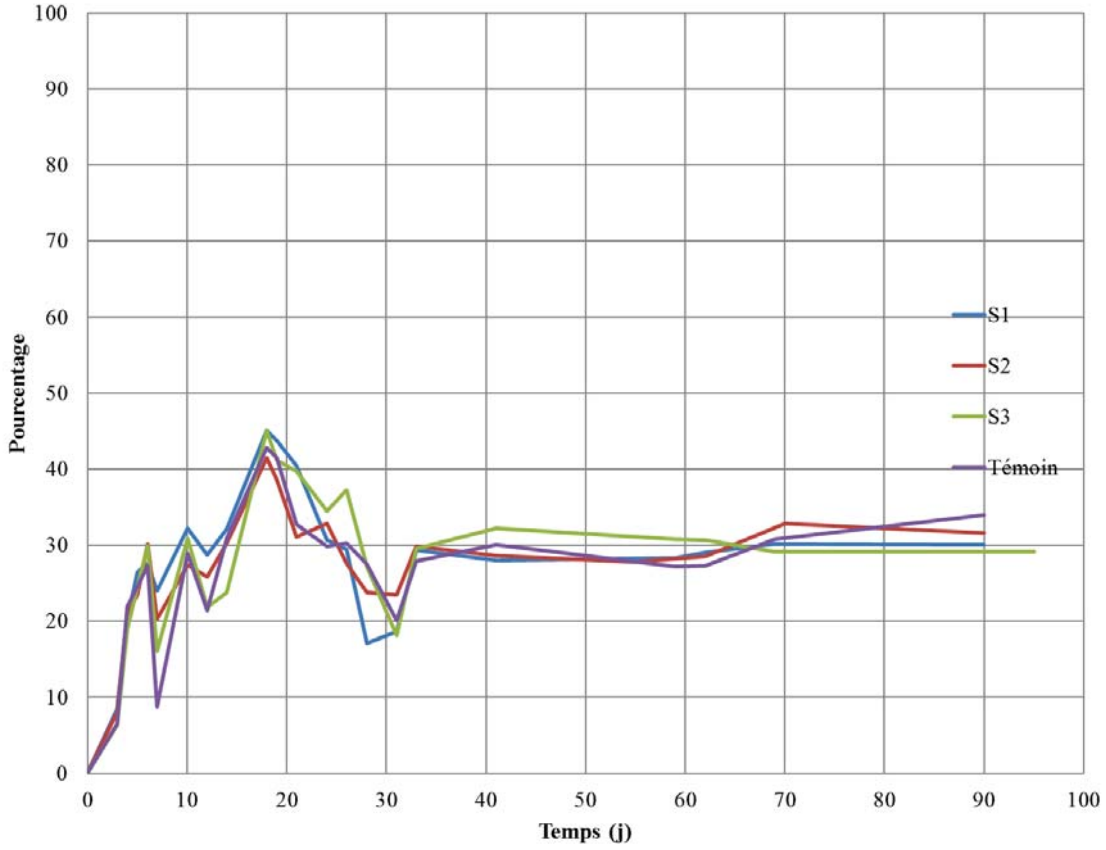


FIGURE 4.3.17 – Fractions volumiques de dioxyde de carbone en fonction de la concentration en streptomycine

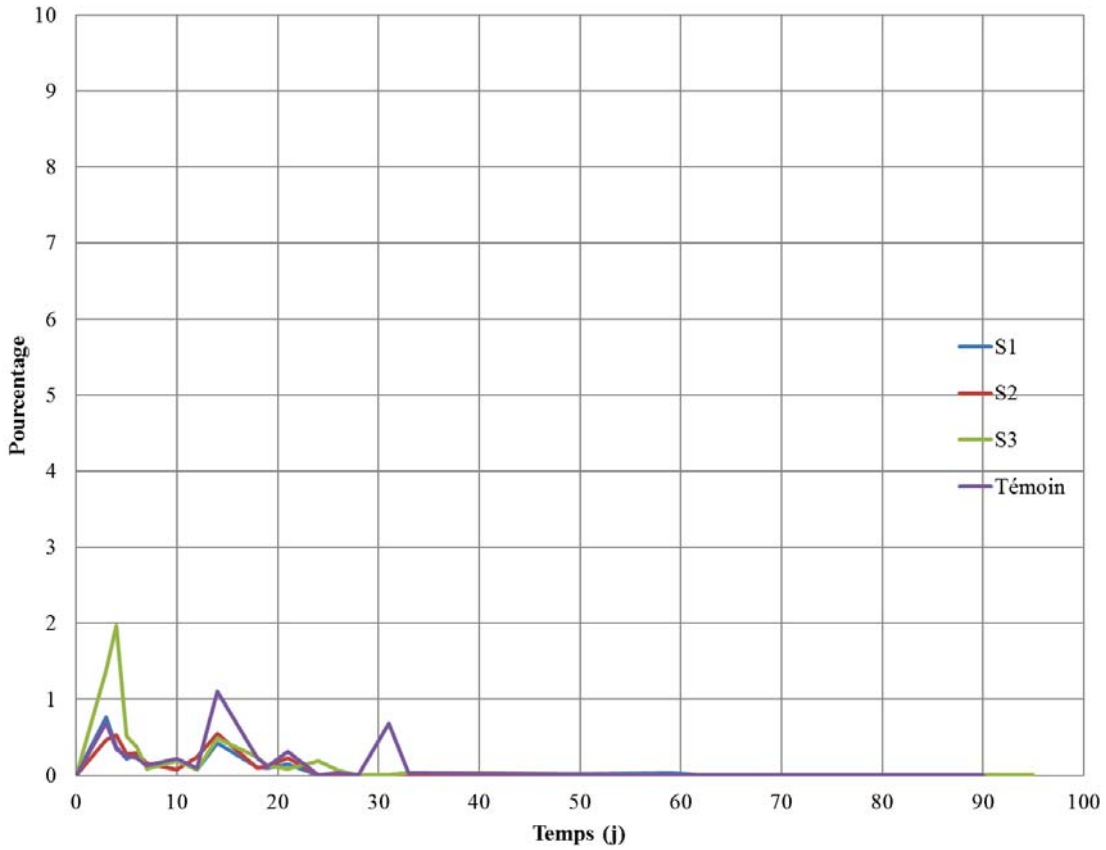


FIGURE 4.3.18 – Fractions volumiques de dihydrogène en fonction de la concentration en streptomycine

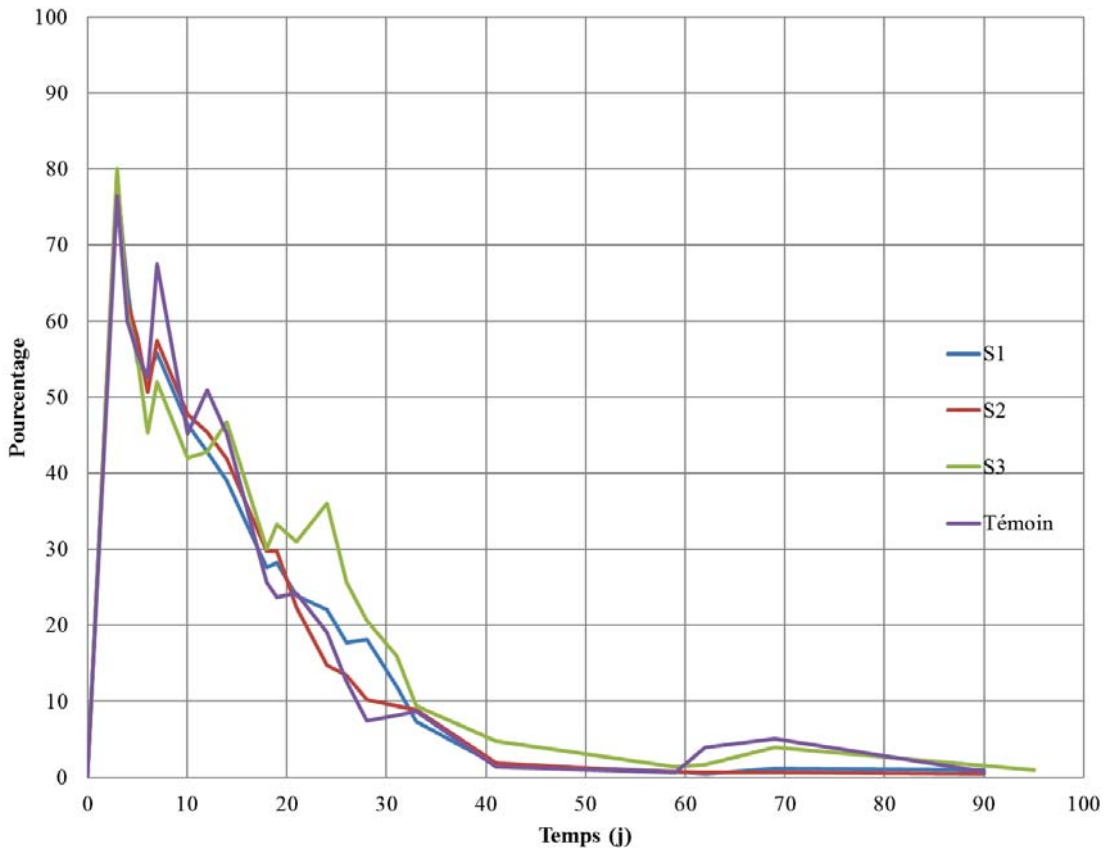


FIGURE 4.3.19 – Fractions volumiques de diazote en fonction de la concentration en streptomycine

Comme dans le cas de la colistine, les fractions volumiques en dioxyde de carbone, en dihydrogène et en azote sont tracées sur un même graphique pour les trois concentrations, ainsi que pour le témoin :

— Fraction volumique en CO_2 selon la concentration en streptomycine (figure 4.3.17)
— Fraction volumique en H_2 selon la concentration en streptomycine (figure 4.3.18)
— Fraction volumique en N_2 selon la concentration en streptomycine (figure 4.3.19).

L'inertage à l'azote implique que la fraction volumique en azote est très élevée au temps initial.

4.3.4 Variabilité des batchs

Pour étudier la variabilité des batchs ayant fait l'objet d'une préparation initiale identique, les batchs, les fractions volumiques pour chaque bouteille sont représentées en fonction du temps, par groupe de trois batchs initialement identiques. Cette représentation est effectuée sous la forme de diagrammes en barres.

Enfin, l'écart-type est représenté pour chacun de ces groupes.

Ainsi, sont obtenues les variations de la fraction volumique en méthane dans les bouteilles :

— témoins (figure 4.3.20)
— à 0,01 mg/L de colistine (figure 4.3.21)
— à 0,1 mg/L de colistine (figure 4.3.22)
— à 1 mg/L de colistine (figure 4.3.23)
— à 0,8 mg/L de streptomycine (figure 4.3.24)
— à 8 mg/L de streptomycine (figure 4.3.25)
— à 80 mg/L de streptomycine (figure 4.3.26)

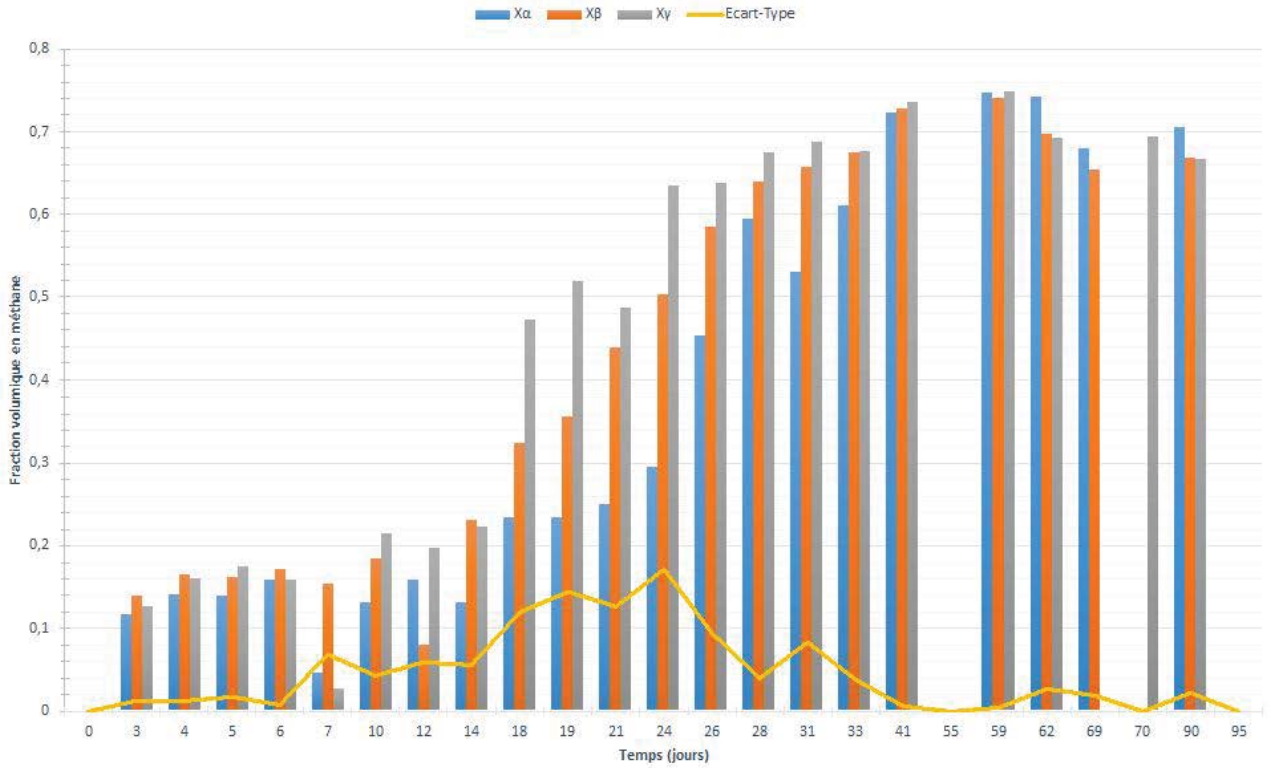


FIGURE 4.3.20 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs témoins et écart-type

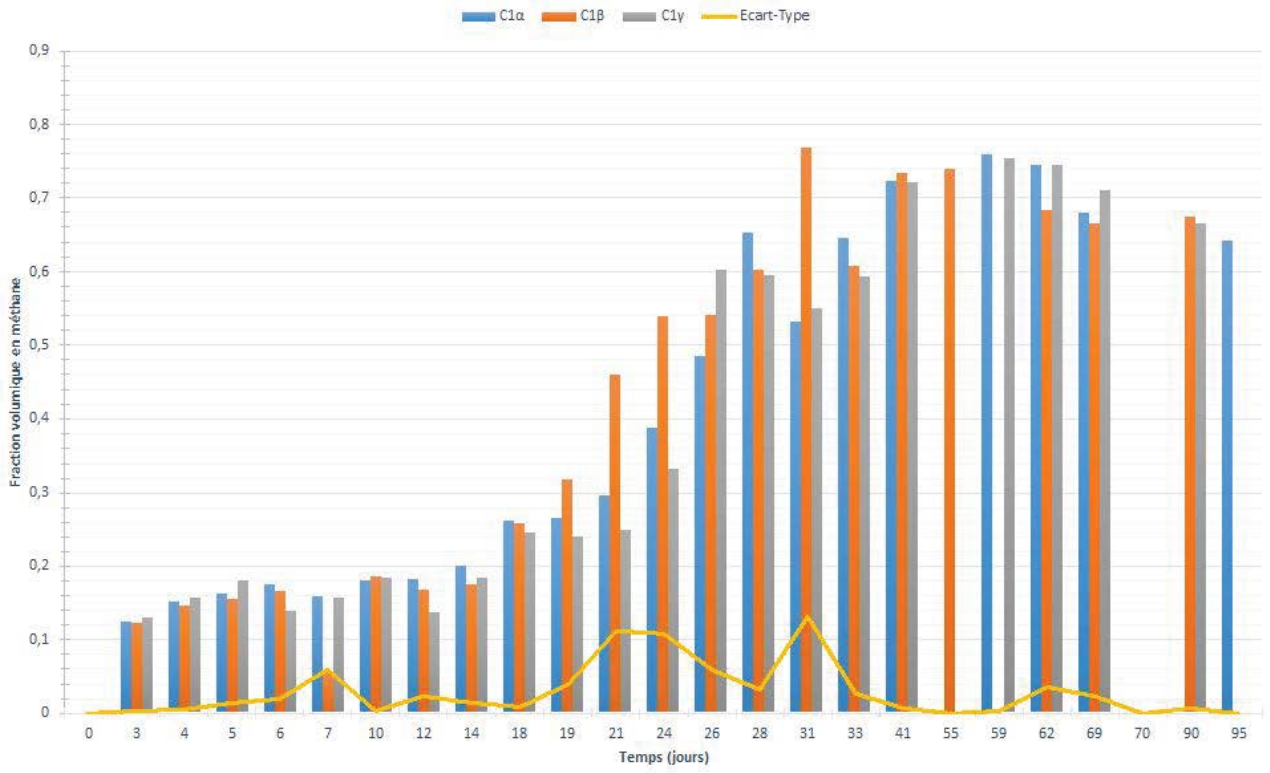


FIGURE 4.3.21 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en colistine de 0,01 mg/L (C1) et écart-type

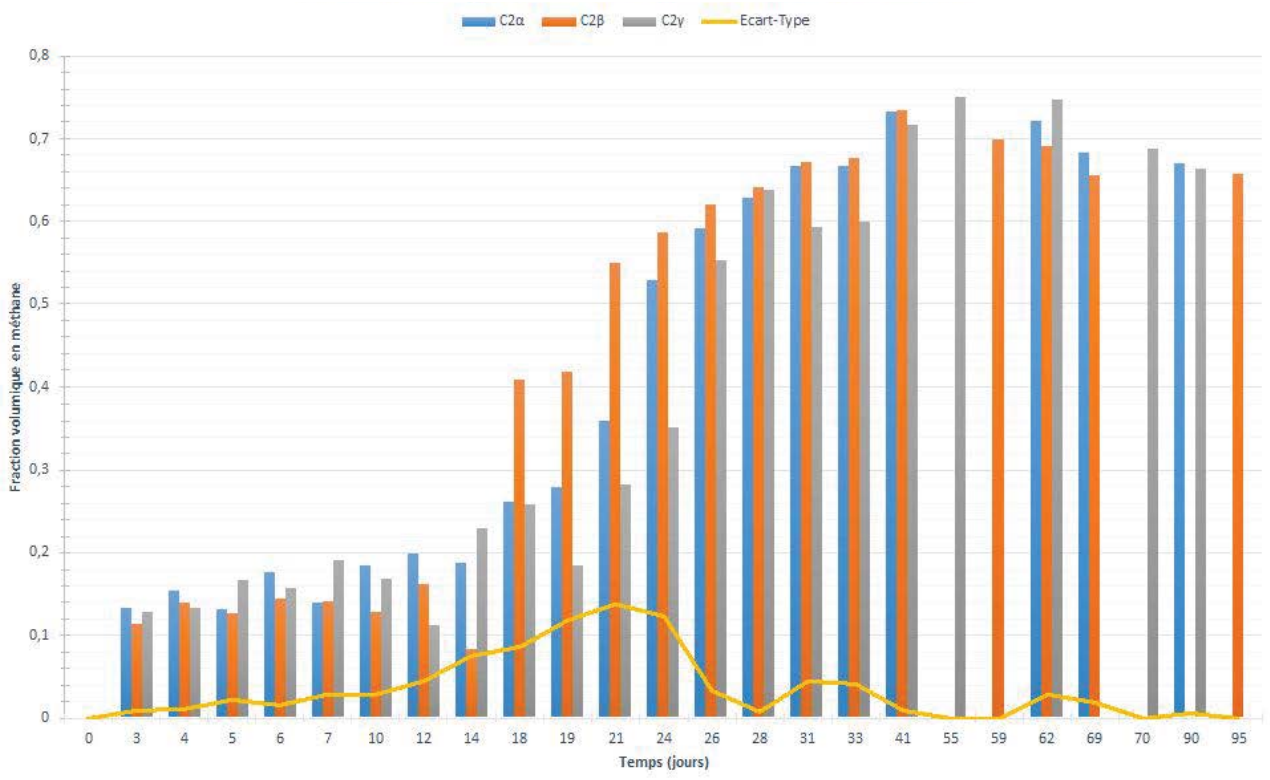


FIGURE 4.3.22 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en colistine de 0,1 mg/L (C2) et écart-type

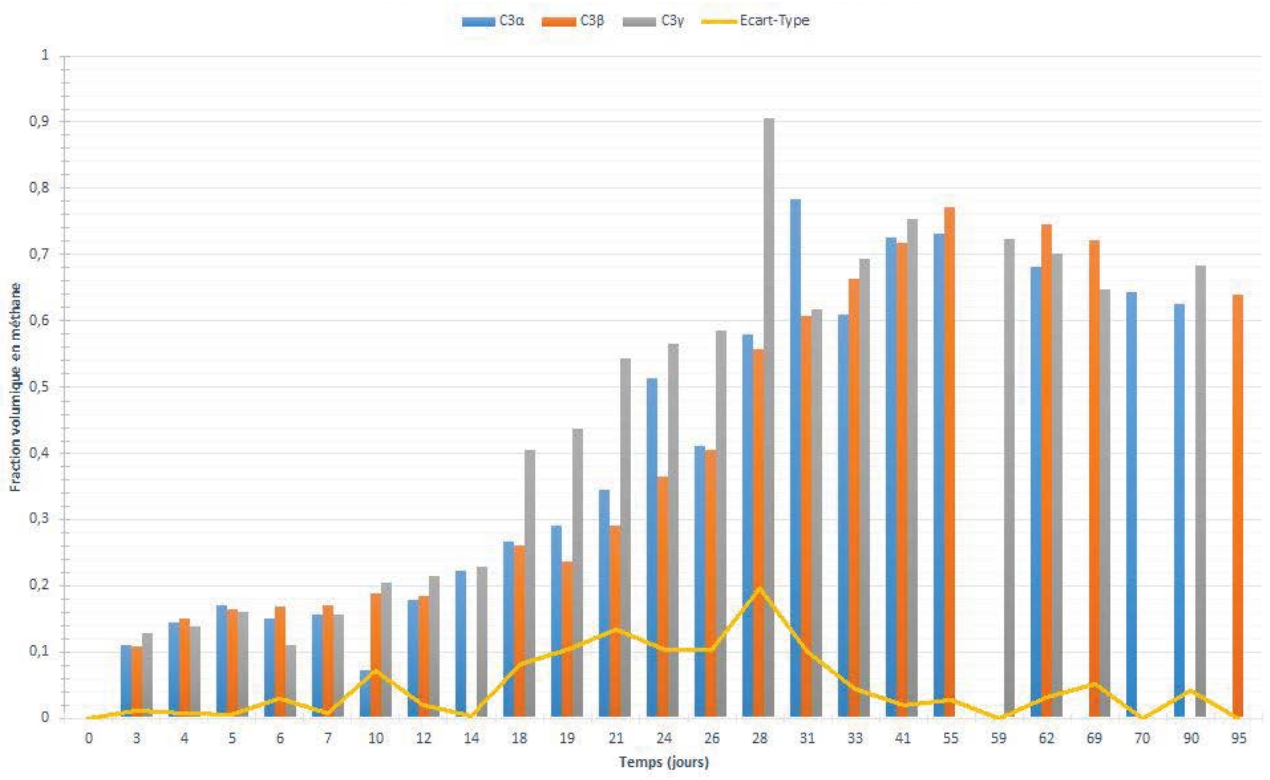


FIGURE 4.3.23 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en colistine de 1 mg/L (C3) et écart-type

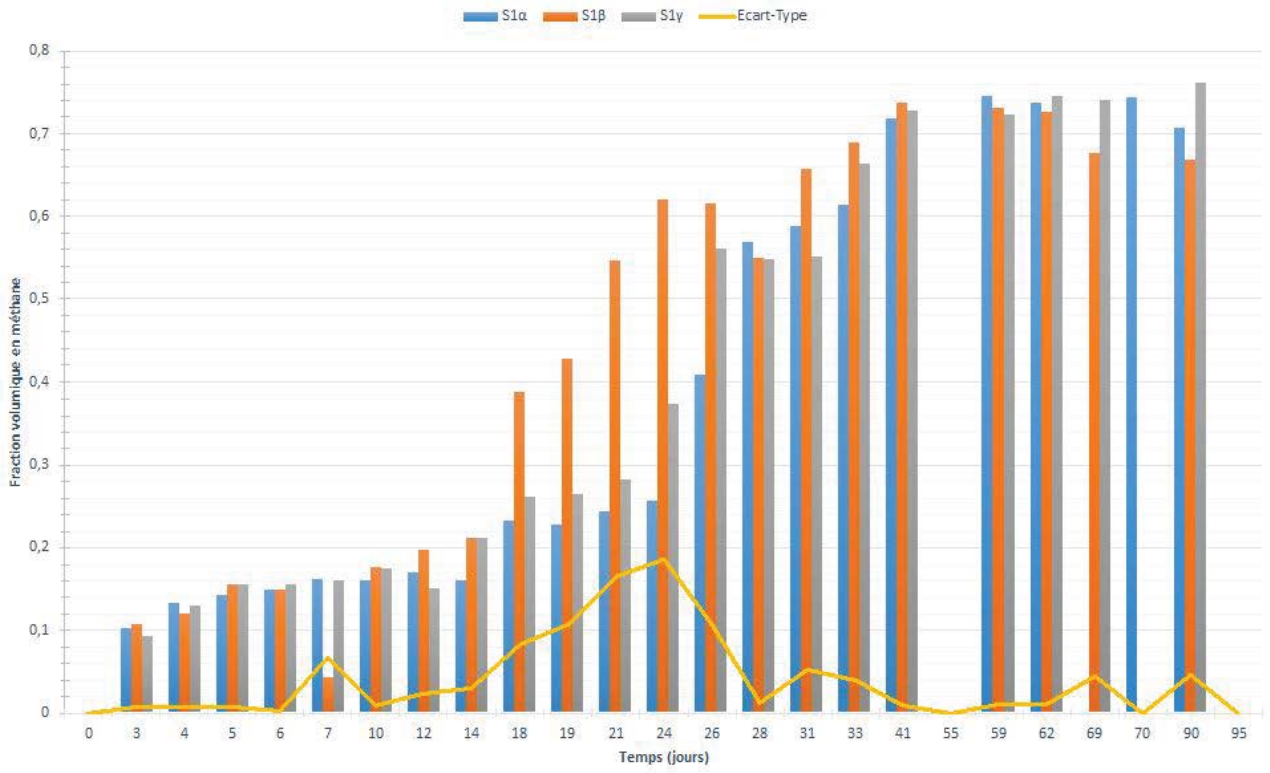


FIGURE 4.3.24 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en streptomycine de 0,8 mg/L (S1) et écart-type

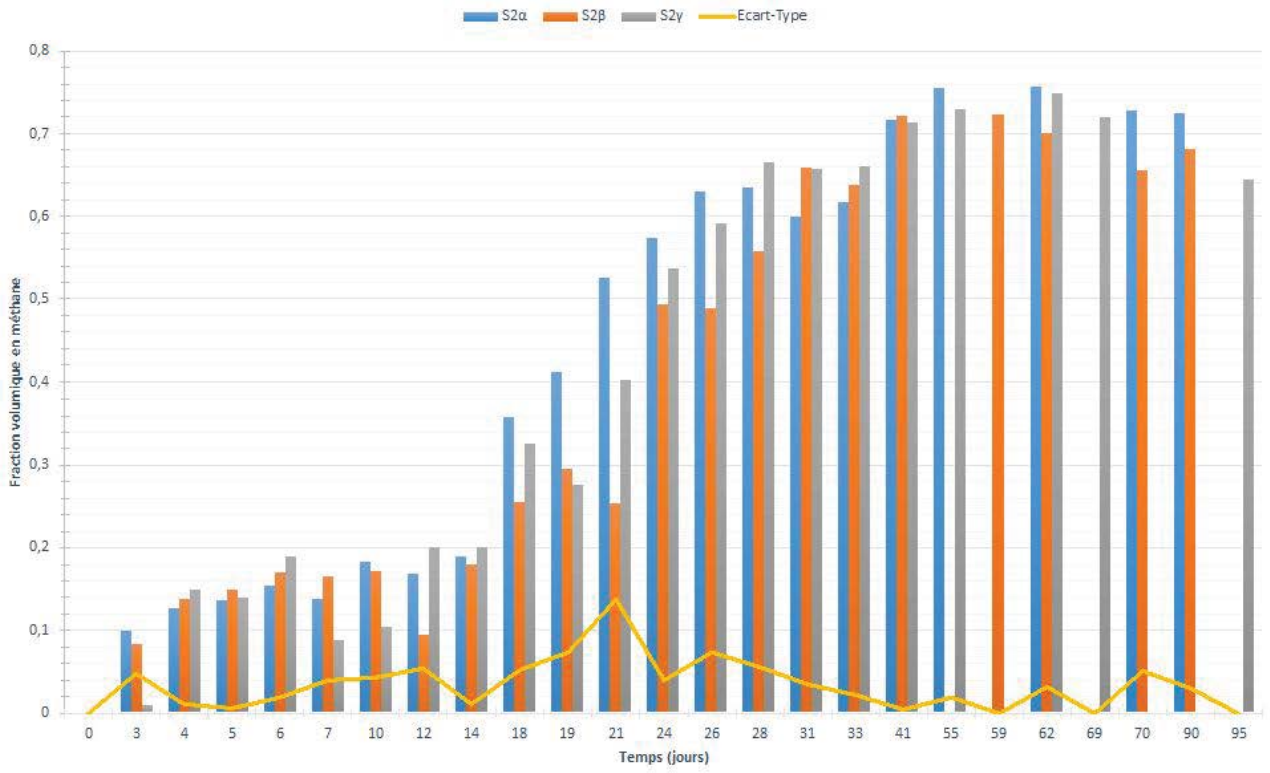


FIGURE 4.3.25 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en streptomycine de 8 mg/L (S2) et écart-type

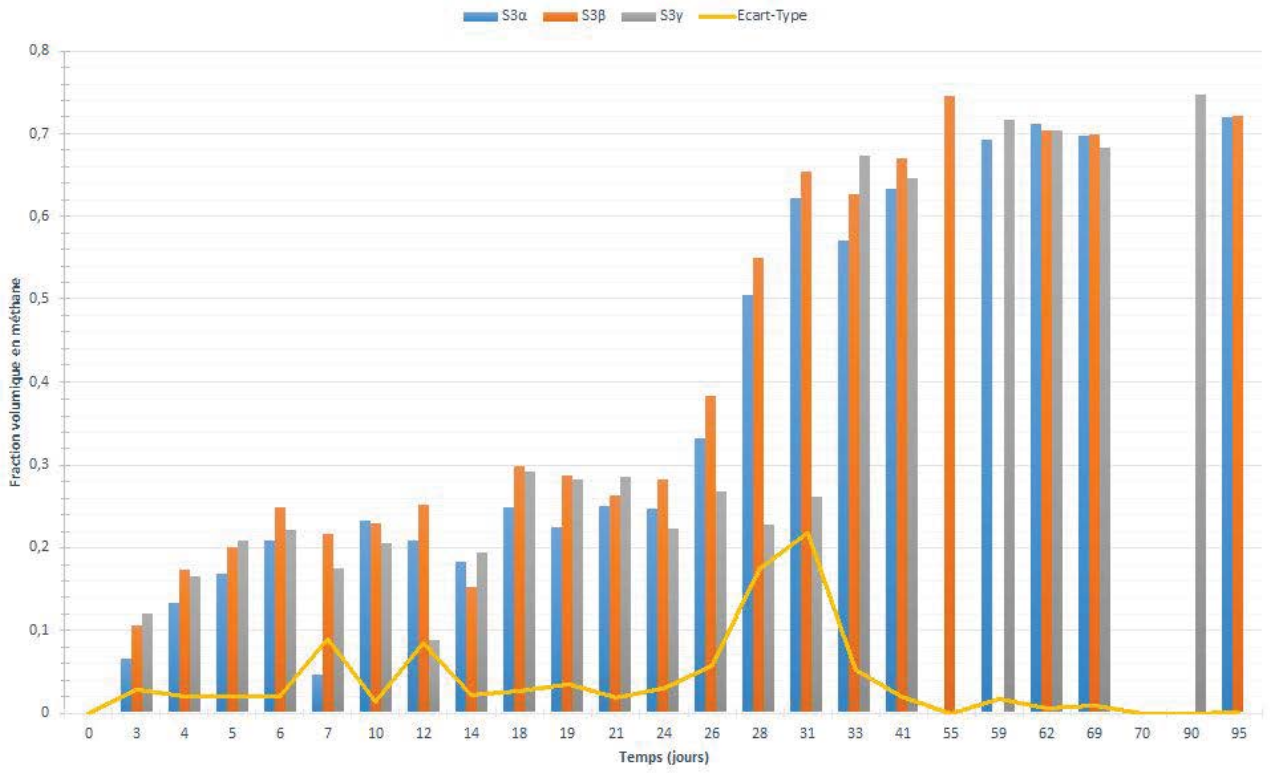


FIGURE 4.3.26 – Fractions volumiques en méthane dans les trois batchs contenant une concentration en streptomycine de 80 mg/L (S3) et écart-type

On remarque que la variabilité, en ce qui concerne les échantillons contenant 0,01 mg/L de colistine, est d'abord faible du 0 ème au 7 ème jour (environ 0,01), puis augmente jusqu'au 24 ème jour (0,16), et diminue ensuite pour atteindre la valeur de départ (environ 0,01) au 41ème jour. Les écarts types les plus faibles correspondent aux périodes où la production en méthane est moindre, tandis que l'augmentation de l'écart type est directement correlé à la fraction volumique en méthane.

Etant donné que la méthanisation est avant tout un processus biologique, son déroulement est caractérisé par une variabilité due à l'activité intrinsèque des bactéries, ou encore aux différentes espèces présentes dans chacun des milieux réactionnels, qui n'est pas identique dans chaque batch. Il est donc envisageable que certaines étapes de la méthanisation, soient, dans un échantillon, légèrement favorisées ou au contraire défavorisées selon la proportion dans le milieu de chaque espèce bactérienne.

Ce phénomène est retrouvé dans chacune des concentrations en antibiotiques étudiées. La variabilité maximale est atteinte pour 80 mg/L de streptomycine (échantillons S3), au jour 31. Elle s'élève alors à 0,23. L'étude de réactions biologiques est donc condi-

tionnée à un ensemble de paramètres non prévisibles ayant un impact sur les résultats finaux.

Dans tous les cas, les écarts-types obtenus sont inférieurs à 0,5 fois la moyenne des valeurs et les fractions volumiques pour les différents gaz sont donc similaires dans chacune des concentrations en antiobiotiques, et dans les bouteilles témoins.

Conclusion et perspectives

L'objectif de cette étude était d'étudier l'influence de deux antibiotiques administrés aux bovins durant l'élevage, à savoir la colistine et la streptomycine sur la méthanisation du lisier. Pour cela, plusieurs réacteurs batchs de laboratoire ont été suivis sur 90 jours, dans le but d'étudier la production en biogaz, et plus particulièrement en méthane. Ceci a été réalisé pour des concentrations en antibiotiques correspondant aux posologies usuelles administrées aux animaux, ainsi qu'à des concentrations 10 et 100 fois supérieures dont le but était de mettre en exergue un éventuel mécanisme d'inhibition.

Nous avons pu observer une inhibition partielle de la méthanisation dans les milieux réactionnels contenant de la streptomycine. En l'absence d'autres composés inhibiteurs, ce phénomène pourrait donc être dû à sa présence, d'autant que les effets observés sont proportionnels à la concentration en antibiotique.

A concentrations faibles et intermédiaires (0,8 et 8 mg/L), la streptomycine semble avoir un effet néfaste sur la cinétique de la méthanisation, en ralentissant la production de biogaz. Ceci pourrait être la conséquence d'une inhibition de la croissance des bactéries.

Pour la concentration la plus élevée de streptomycine (80 mg/L), en plus de l'effet précédemment exposé, le volume de méthane produit sur l'ensemble des 90 jours est plus faible que dans les autres batchs.

La colistine, quant à elle, n'a pas montré aux concentrations étudiées de phénomènes d'inhibition de la méthanisation.

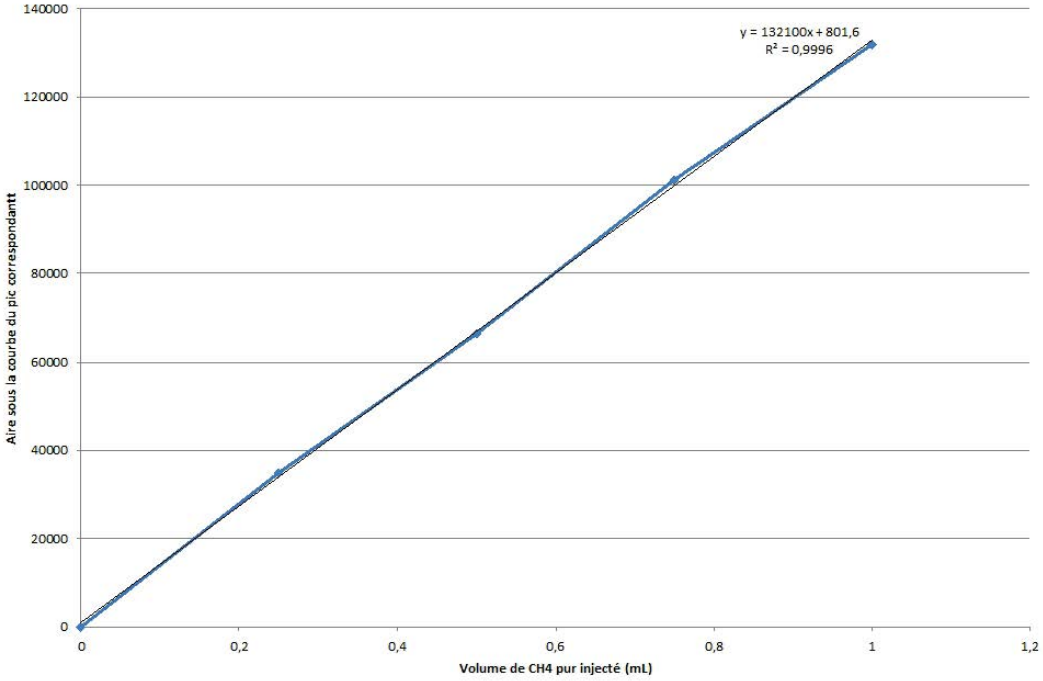
Dans l'étude des deux antibiotiques, des évolutions ont été observées jusqu'au 70ème jour. Il semble donc utile de dépasser les deux mois classiquement utilisés lors de la réalisation d'expériences concernant la méthanisation.

Dans cette étude, seule la streptomycine et la colistine ont été étudiées. Or, comme présenté dans le chapitre 2, de nombreux antibiotiques sont administrés aux bovins, tant

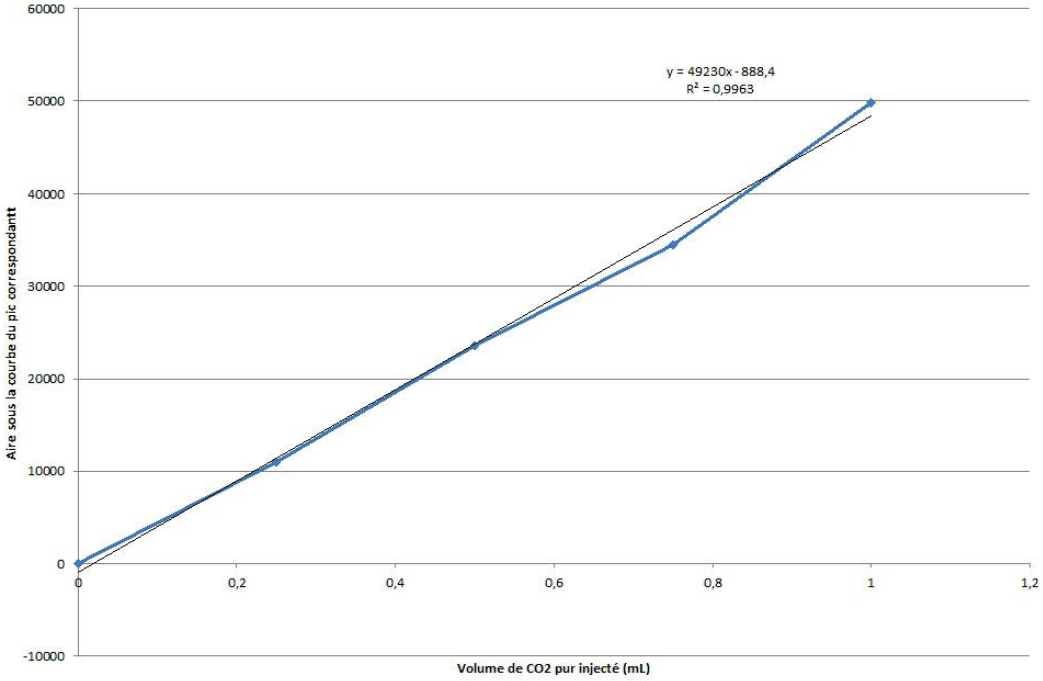
pour un but curatif que préventif. Il faudrait donc étudier l'influence d'autres antibiotiques sur la méthanisation. Des travaux sont en cours au LRGP dans cette optique.

Enfin, les expériences ont ici été effectuées sur des batchs, c'est-à-dire sur des réacteurs discontinus. Il semble nécessaire de transposer l'étude effectuée sur un méthaniseur semi-continu pour étudier l'effet des antibiotiques sur un réacteur à l'échelle industrielle. En effet, un phénomène d'acclimatation des bactéries est possible : en milieu semi-continu, les effluents entrent, et du digestat sort du réacteur, mais celui-ci est lentement vidé et le nouvel effluent est donc en contact avec l'ancien. Ainsi, les bactéries pourraient s'acclimater aux antibiotiques présents dans le milieu et acquérir des mécanismes de résistance, ce qui ferait qu'à concentrations égales en antibiotiques, la production de méthane serait plus faible voire inexistante.

Annexes

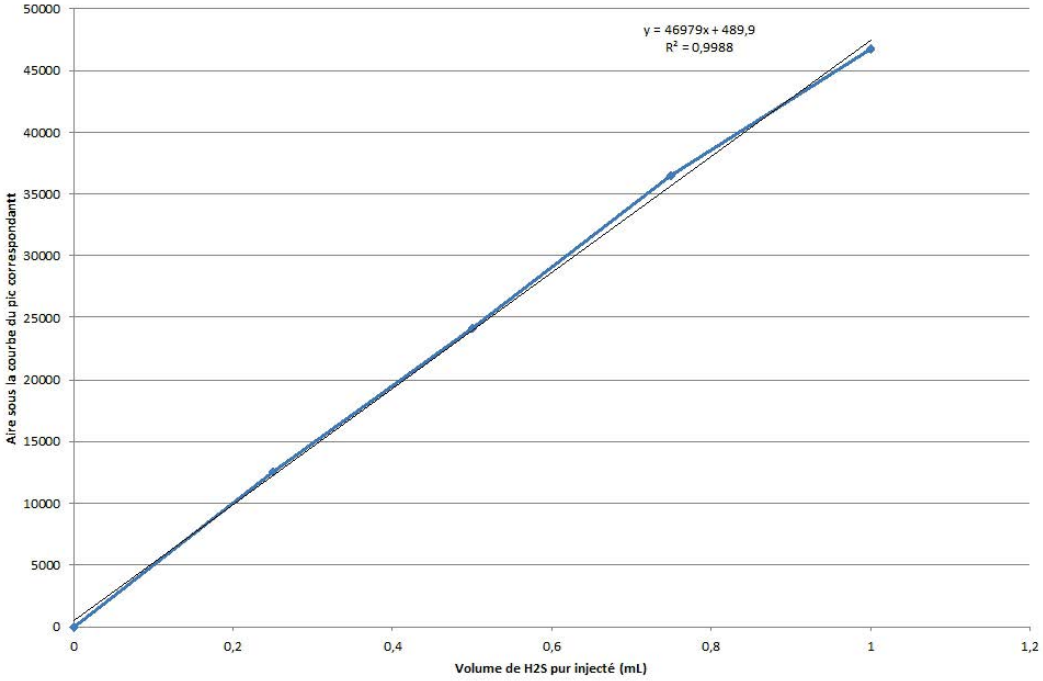


(a) Méthane

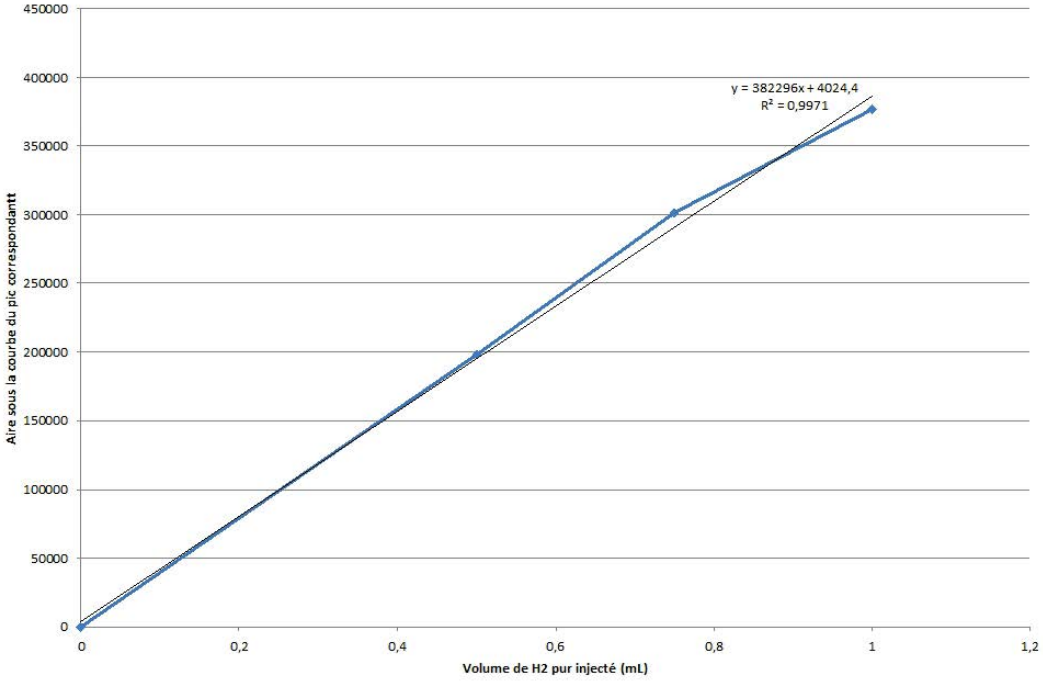


(b) Dioxyde de carbone

FIGURE 4.0.1 – Calibration des fractions volumiques : régressions linéaires (1)



(a) Sulfure d'hydrogène



(b) Dihydrogène

FIGURE 4.0.2 – Calibration des fractions volumiques : régressions linéaires (2)

Bibliographie

Etude de faisabilité pour la valorisation des boues liquides de stations d'épuration. Rapport technique, Conseil Général de la Dordogne, Service de l'eau, 2011.

La méthanisation à la ferme. Rapport technique, Association des Agriculteurs méthaniseurs de France - Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie, 2011.

Produire du méthane - guide technique. Rapport technique, Association d'Initiatives Locales pour l'Energie et l'Environnement, 2012.

Nouceiba Adouani, Billy Homeky, Olivier Potier et Marie-Noelle Pons : Anaerobic co-digestion of cow manure with grass silage : rapid assessment of effectiveness. Rapport technique, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, CNRS Université de Lorraine, 2012.

Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie Bourgogne : La méthanisation : comment se transforme la matière organique en énergie ? Rapport technique, 2010.

Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail : Index des médicaments vétérinaires autorisés en france, 2015. URL `http://www.ircp.anmv.anses.fr/`.

Agence Regionale Energie Réunion : La méthanisation, c'est quoi ? quels sont les enjeux à la réunion ? Rapport technique, 2013. Auteur non connu.

Essam Almansour : *Bilans énergétiques et environnementaux de filières biogaz : Approche par filière-type.* Thèse de doctorat, Université Bordeaux 1, Ecole doctorale : Sciences Physiques pour l'Ingénieur, 2011.

Rubén Angeriz-Campoy, Carlos J. Alvarez-Gallego et Luis I. Romero-Garcia : Thermophilic anaerobic co-digestion of organic fraction of municipal solid waste

(ofmsw) with food waste (fw) : Enhancement of bio-hydrogen production. *Bioresource Technology*, 194:291–296, Oct 2015. URL `http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.07.011`.

Michał Arabski, Sławomir Wasik, Kazimierz Dworecki et Wiesław Kaca : Laser interferometric and cultivation methods for measurement of colistin/ampicilin and saponin interactions with smooth and rough of proteus mirabilis lipopolysaccharides and cells. *Journal of microbiological methods*, 77(2):178–183, May 2009. URL `http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2009.01.020`.

Thierry Arnaud, Stéphane Pellet et Marie Laure Follut : Optimisation de la montée en charge des méthaniseurs à boues granulaires. Rapport technique, Veolia Eau, 2011.

Martin Avenel-Audran : *Allergie aux antibiotiques autres que bêtalactamines*. John Libbey Eurotext, 2008.

Gérard Baluais : Post-traitements à la filtration. *Techniques de l'ingénieur, Opérations unitaires : séparation de phases, décantation et filtration*, (ref. article : j3502), 1997. URL `http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/operations-unitaires-separation-de-phases-decantation-et-filtration-42484210/post-traitements-a-la-filtration-j3502/`.

Charles Banks : Anaerobic digestion and energy. Rapport technique, University of Southampton, 2011.

Guillaume Bastide : Méthanisation. Rapport technique, Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie, 2014.

A Bec, F Boutin, P Delaunois, J Beillevaire, A Giraudeau, S Moreau, G Mauguen, T Palka, G Petegnief, C David, F Marc et B Sallé : Méthanisation de déchets issus de l'élevage, de l'agriculture et de l'agroalimentaire. Rapport technique, Institut National de Recherche et de Sécurité, 2013.

Arodi Bernal-Martinez, Hélène Carrière, Dominique Patureau et Jean-Philippe Delgenès : Ozone pre-treatment as improver of pah removal during anaerobic digestion of urban sludge. *Chemosphere*, 68(6):1013 – 1019, 2007. ISSN 0045-6535. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0045653507002366`.

Dave Bernier : Etude et modélisation de la cinétique orale de l'amoxicilline chez le porcelet sevré. Mémoire de D.E.A., Université de Montréal, 2008.

Mylène Besson et René Moletta : Aspects sanitaires de l'épandage de digestats issus de méthanisation à la ferme. Rapport technique, 2010.

Silpak Biswas, Jean-Michel Brunel, Jean-Christophe Dubus, Martine Reynaud-Gaubert et Jean-Marc Rolain : Colistin : An update on the antibiotic of the 21st century. Rapport technique 10, Expert Review of Anti-infective Therapy, 2012.

Pierre Blazy, El-Aid Jdid et Jacques Yvon : Fragmentation applications aux substances industrielles. *Techniques de l'ingénieur Opérations unitaires : tri et traitement des liquides et des solides*, (ref. article : j3053), 2015. URL `http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedes-chimie-bio-agro-th2/operations-unitaires-tri-et-traitement-des-liquides-et-des-solides-42446210/fragmentation-j3053/`.

Günther Bochmann et Lucy F.R. Montgomery : Storage and pre-treatment of substrates for biogas production. *In* Arthur WellingerJerry MurphyDavid Baxter, éditeur : *The Biogas Handbook*, Woodhead Publishing Series in Energy, pages 85 – 103. Woodhead Publishing, 2013. ISBN 978-0-85709-498-8. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978085709498850004X`.

Anne-Sophie Boileau : Méthanisation - elements de réflexion. Rapport technique, Chambre d'agriculture Loire-Atlantique, 2013.

Deshai Botheju et Rune Bakke : Oxygen effects in anaerobic digestion-a review. *Telemark University College*, 2011.

C. Bougrier, C. Albasi, J.P. Delgenès et H. Carrière : Effect of ultrasonic, thermal and ozone pre-treatments on waste activated sludge solubilisation and anaerobic biodegradability. *Chemical Engineering and Processing : Process Intensification*, 45 (8):711 – 718, 2006. ISSN 0255-2701. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0255270106000572`.

Fabien Bova : La méthanisation, état des lieux et perspectives de développement. Rapport technique, FranceAgriMer, 2012.

L. Boyadzhiev, S. Alexandrova, N. Kirilova et A. Saboni : Pertraction continue de tylosine dans un contacteur a films tournants. *Chemical Engineering Journal*, 95 (1):137–141, 2003.

P. Buffiere, R. Bayard et P. Germain : Freins et développements de la filière biogaz : les besoins en recherche et développement. Rapport technique 134 p, n°07-0418/1A., RECORD, 2009.

Pierre Buffiere, Matthieu Carrere, Olivier Lemaire et Javier Vasquez : Guide méthodologique pour l'exploitation d'unités de méthanisation. Rapport technique, Centre de Recherche Propreté et Energie, 2007.

Cristina Cavinato : Anaerobic digestion fundamentals i. Rapport technique, Université de Venise, 2011.

Cristina Cavinato, David Bolzonella, Francesco Fatone, Franco Cecchi et Paolo Pavan : Optimization of two-phase thermophilic anaerobic digestion of biowaste for hydrogen and methane production through reject water recirculation. *Bioresource Technology*, 102(18):8605–8611, Sep 2011.

E.A. Cazier, E. Trably, J.P. Steyer et R. Escudie : Biomass hydrolysis inhibition at high hydrogen partial pressure in solid-state anaerobic digestion. *Bioresource Technology*, 190(0):106 – 113, 2015. ISSN 0960-8524. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852415005623`.

Anne-Marie Charissou, Marie-José Jourdain et Thierry Chesnot : Microorganismes pathogènes dans les filières de traitement des déchets : cas des légionelles. Rapport technique, RECORD, 2007.

Jian Lin Chen, Raphael Ortiz, Terry W J. Steele et David C. Stuckey : Toxicants inhibiting anaerobic digestion : a review. *Biotechnology Advances*, 32(8):1523–1534, Dec 2014. URL `http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.10.005`.

Mei Chen, Camille Granvil, Qin C Ji, Zhi-Yi Zhang, Mahesh V Padval et Vikram V Kansra : Development and validation of a liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantitation of prednisolone and dipyridamole in human plasma and its application in a pharmacokinetic study. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 49(5):1241–1249, 2009.

Ian Chopra et Marilyn Roberts : Tetracycline antibiotics : mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 65(2):232–260, 2001.

Cécile Clicquot de Mentque : Un nouveau projet de co-méthanisation. *In Environnement magazine*. 02 2008.

R Cresson, S Pommier, F Béline et T Bouchez : Etude interlaboratoires pour l'harmonisation des protocoles de mesure du potentiel méthanogène des matrices solides hétérogènes. Rapport technique, INRA Transfert Environnement, 2015.

Romain Cresson : *Etude du démarrage de procédés intensifs de méthanisation*. Thèse de doctorat, Université Montpellier II, 2006.

Armelle Damiano : Guide de suivi de la biologie sur une unité de méthanisation agricole. Rapport technique, Association d'Initiatives Locales pour l'Energie et L'Environnement, 2011.

Alain Damien : *La biomasse énergie - Définitions, ressources et modes de transformation - 2e édition*. Dunod, 2013. ISBN 2100585398.

Marie-Line Daumer, Fabrice Béline et Guiziou Fabrice : Traitement biologique des lisiers de porcs en boues activées. Rapport technique, Cemagref, 2005.

M.A. de Pedro : Peptidoglycan (murein). *In* Moselio Schaechter, éditeur : *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition)*, pages 453 – 469. Academic Press, Oxford, third edition édition, 2009. ISBN 978-0-12-373944-5. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123739445003394`.

Barbara Decaudin : État des principaux plans d'eau du bassin seine-normandie, inventaires des pressions sur leur bassin versant et première ébauche de programmes de mesures. Rapport technique, Agence de l'Eau Seine-Normandie, 2011.

Philippe Delfosse : Microbiologie de la digestion anaérobie. Rapport technique, Centre de Recherche Public Gabriel Lippmann, 2011.

Philippe Delfosse, Sébastien Lemaigre, Xavier Goux, Frédéric Mayer, Anaïs Noo, Jos Flammang, Eric Noo, Eric Smekens, Elodie Boland, Bénédicte De Vos et Céline Stegen : Potentiel méthanogène des plantes energétiques et des résidus de cultures. Rapport technique, "ENERBIOM/OPTIBIOGAZ, LuxCycle, BIONIR/Agrométhane", 2010.

Myriam Demuynck, Edmond-Jacques Nyns et Wolfgang Palz : Installations de biogaz en europe. Rapport technique, Commission Européenne, 1987.

Université de Patras" "Division de génétique, biologie cellulaire et développement : Détermination de l'activité de la lipase. URL `http://www.microbiology.biology.upatras.gr/index.php/en/protocols/112-determination-of-lipase-activity`.

Micheline Draye, Julien Estager, Max Malacria, Jean-Philippe Goddard et Cyril Ollivier : Sonochimie organique. *Techniques de l'ingénieur Production des médicaments*, (ref. article : k1250), 2015. URL `http:`

//www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/biomedical-pharma-th15/production-des-medicaments-42610210/sonochimie-organique-k1250/.

Vincent Dubée : *Stratégies d'optimisation des bêta-lactamines pour le traitement des infections dues aux mycobactéries multirésistantes.* Thèse de doctorat, Ecole doctorale Complexité du vivant, Paris VI, 2014. URL http://www.theses.fr/2014PA066415. Thèse de doctorat dirigée par Gutmann, Laurent Microbiologie Paris 6 2014.

M. Ellouze et J.C. Augustin : Applicability of biological time temperature integrators as quality and safety indicators for meat products. *International journal of food microbiology*, 138(1):119–129, 2010.

National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Database : Cid=6914605. URL https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6914605.

D. Frasca, C. Dahyot-Fizelier et O. Mimoz : La colistine en réanimation. *Département d'anesthésie-réanimation, Inserm ERI-23, CHU de Poitiers, université de Poitiers*, 17(3):251–258, 2008.

Sylvain Frédéric et Aurélien Lugardon : Méthanisation des effluents industriels liquides. *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*, (J3943), 2007.

J. J. Godon, E. Zumstein, P. Dabert, F. Habouzit et R. Moletta : Molecular microbial diversity of an anaerobic digestor as determined by small-subunit rdna sequence analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7):2802–2813, Jul 1997.

Doug Hamilton : Types of anaerobic digesters, 2012. URL http://articles.extension.org/pages/30307/types-of-anaerobic-digesters.

Billy Osborne Homeky, Nouceiba Adouani, Olivier Potier et Marie-Noëlle Pons : Anaerobic co-digestion of cow manure with grass silage : rapid assessment of effectiveness. Rapport technique, Laboratoire Réactions et Génie des Procédés, 2012.

Daniel Hoornweg, Perinaz Bhada-Tata et Chris Kennedy : Waste production must peak this century. *Nature*, 502:616–617, octobre 2013.

Claire Ingremeau : Avancées réglementaires et techniques sur les digestats. Rapport technique, Club Biogaz de l'ATEE, 2013.

Institut de veille sanitaire : Stockage des déchets et santé publique. Rapport technique, 2005.

Christian Jacquot : *Pharmacologie*. Elsevier-Masson, 2008. ISBN 2294089006. URL http://www.amazon.com/Pharmacologie-French-Edition-Christian-Jacquot/dp/2294089006%3FSubscriptionId%3D0JYN1NVW651KCA56C102%26tag%3Dtechkie-20%26linkCode%3Dxm2%26camp%3D2025%26creative%3D165953%26creativeASIN%3D2294089006.

Claire Janis-Mazarguil : Co-méthanisation : des projets intégrés à la dynamique locale. *In Actions EnR*, numéro 9. 2010.

Kevin S. Jewell, Sandro Castronovo, Arne Wick, Per Falås, Adriano Joss et Thomas A. Ternes : New insights into the transformation of trimethoprim during biological wastewater treatment. *Water Res*, 88:550–557, Oct 2015. URL http://dx.doi.org/10.1016/j.watres.2015.10.026.

N. Karimian, M.B. Gholivand et F. Taherkhani : Computational design and development of a novel voltammetric sensor for minoxidil detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 740:45–52, 2015.

Tadeusz Korzybski, Zuzanna Kowszyk-Gindifer et Wlodzimierz Kurylowicz : *Antibiotics : origin, nature and properties*, volume 1. Elsevier, 2013.

A. Lallai, G. Mura et N. Onnis : The effects of certain antibiotics on biogas production in the anaerobic digestion of pig waste slurry. *Bioresource Technology*, 82(2):205–208, Apr 2002.

A. Le Bozec : Evaluation des technologies propres et durables de gestions des déchets. Rapport technique, Centre national du machinisme agricole du génie rural, des eaux et des forêts, 2011.

Cyril Lejeune : Valorisation électrique et thermique du biogaz de méthanisation. Rapport technique, Pro2 Anlagentechnik GmbH, 2008.

Danielle Levet, Agnès Le Hen, Sandrine Jacques, Jérôme Mouchelin et Alain Berly : Guide pratique des substances toxiques dans les eaux douces et littorales. Rapport technique, Agence de l'Eau Seine Normandie, 2008.

Tomasz Maślanka, Jerzy J. Jaroszewski, Włodzimierz Markiewicz, Agnieszka Jasiecka, Hubert Ziółkowski et Dawid Jędrzkiewicz : Effects of dexamethasone and meloxicam on bovine cd25+cd8+ and cd25-cd8+ t cells - in vitro study. *Research in Veterinary Science*, 94(3):662 – 674, 2013. ISSN 0034-5288. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528812003578.

Stéphane Marchandise : Récupération de chaleur fatale pour la production d'électricité dans l'industrie et applications en énergie renouvelable. Rapport technique, Institut de Conseil et d'Études en Développement Durable, 2014.

Elaine N. Marieb : *Human Anatomy & Physiology – Fifth 5th Edition.* Benjamin Cummings, 2001.

Joan Mata-Alvarez, Joan Dosta, Maycoll Stiven Romero-Guiza, Xavier Fonoll et Sergi Astals : A critical review on anaerobic co-digestion achievements between 2010 and 2013. Rapport technique, Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2014.

Editions Medcom : Le recueil des spécialités à usage vétérinaire, 2014. URL `http://www.med-vet.fr/`.

Shannon M. Mitchell, Jeffrey L. Ullman, Amy L. Teel, Richard J. Watts et Craig Frear : The effects of the antibiotics ampicillin, florfenicol, sulfamethazine, and tylosin on biogas production and their degradation efficiency during anaerobic digestion. *Bioresource technology*, 149:244–252, 2013.

René Moletta : *La méthanisation.* Ed. Tec & doc Lavoisier, Paris, 2011. ISBN 9782743012717.

Gérard Moulin et Anne Chevance : Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en france en 2014. Rapport technique, Anses - Agence Nationale du Médicament Vétérinaire, 2015.

R. Nasnas, G. Saliba et P. Hallak : The revival of colistin : An old antibiotic for the 21st century. *Pathologie Biologie*, 57(3):229 – 235, 2009. ISSN 0369-8114. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0369811407002234`.

Vincent Nordmann : *Caractérisation et impact des différentes fractions d'une biomasse lignocellulosique pour améliorer les prétraitements favorisant sa méthanisation : utilisation de la paille de blé comme biomasse lignocellulosique d'étude.* Thèse de doctorat, Université de Bordeaux 1, 2014.

OCDE : Energie : les cinquantes prochaines années. Rapport technique, 1999.

Karena Ostrem et Nickolas J. Themelis : *Greening waste : anaerobic digestion for treating the organic fraction of municipal solid wastes.* Thèse de doctorat, Department of Earth and Environmental Engineering, Fu Foundation of School of Engineering and Applied Science, Columbia University, 2004.

Jérôme Pacanowski : Penicillines. Rapport technique, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Saint-Antoine, GHU Paris-Est., 2007.

François Pebret : *Maladies infectieuses : toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales*. Heures de France, 2003.

Alain Philippon : Antibiotiques iii : résistance bactérienne. Rapport technique, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris V, 2014.

Abbé Pinault : *Traité élémentaire de physique*. 1836.

Pion : Méthanisation. Rapport technique, Chambre d'agriculture Haute-Loire, 2010.

Volana-Astéerie Rakotoniaina : Co-méthanisation des déchets fermiers et alimentaires : expérimentation et modélisation. Rapport technique, Université de la Réunion, 2012.

M.E. Reverdy, J. Fleurette, Ch. Nervi et J. Etienne : Bactéricidie comparée de la cloxacilline seule et en association sur staphylococcus aureus. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 26(4):504 – 509, 1996. ISSN 0399-077X. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0399077X96802332`.

Montserrat Pérez Rocío Montañés, Rosario Solera : Anaerobic co-digestion of sewage sludge and sugar beet pulp lixiviation in batch reactors : effect of temperature. *Bioresource Technology*, 180:177–184, Mar 2015. URL `http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.056`.

Fabien Saint, Laurent Salomon, Antony Cicco, Alexandre de la Taille, Dominique Chopin et Clément Claude Abbou : Les tendinopathies liées aux fluoroquinolones : les sujets à risque, les mécanismes physiopathologiques incriminés, la prise en charge thérapeutique. Rapport technique, Service d'Urologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France, 2001.

Yanmin Shen, Zhenfeng Liu, Tao Li et Baozeng Ren : Determination and correlation of solubility of tylosin tartrate in alcohol mixtures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 80(0):128 – 134, 2015. ISSN 0021-9614. URL `http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021961414002791`.

Frank Steenhaut : La valorisation du biogaz par stations de cogénération. Rapport technique, PRO2, 2006.

Denis Ollivier Trame : Les cive : Cultures intermédiaires à vocation energétique. Rapport technique, Association Agriculteurs Méthaniseurs de France, 2013.

M. Vaubourdolle : *Infectiologie*. Collection Le Moniteur internat. Groupe Liaisons, 2007. ISBN 9782915585407. URL https://books.google.fr/books?id=9cflW4DrFKUC.

Waldemar Vollmer : Chapter 6 - peptidoglycan. *In* Yi-Wei TangMax SussmanDongyou LiuIan PoxtonJoseph Schwartzman, éditeur : *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)*, pages 105 – 124. Academic Press, Boston, second edition édition, 2015. ISBN 978-0-12-397169-2. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123971692000068.

Shufang Wang, Ping Yang et Yiyu Cheng : Analysis of tetracycline residues in bovine milk by ce-ms with field-amplified sample stacking. *Electrophoresis*, 28(22):4173–4179, 2007.

Sandra Widmann : *Intérêt de l'association entre l'enrofloxacine et la colistine ainsi que de l'enrofloxacine et la bromhexine dans le traitement des infections respiratoires aviaires*. Thèse de doctorat, Université Claude Bernard, 2008.

Fubin Yin, Dongling Wang, Zifu Li, Thomas Ohlsen, Peter Hartwig et Sven Czekalla : Study on anaerobic digestion treatment of hazardous colistin sulphate contained pharmaceutical sludge. *Bioresour Technol*, 177:188–193, Feb 2015. URL http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.11.091.

Isabelle Zdanevitch, Guillaume Masselot, Serge Collet et Olivier Bour : Etude de la composition du biogaz de méthanisation agricole et des émissions en sortie de moteur de valorisation. Rapport technique, INERIS, 2009.

Lei Zhang, Xian Long Cheng, Yang Liu, Miao Liang, Honghuan Dong, Beiran Lv, Wenning Yang, Zhiqiang Luo et Mingmin Tang : Identification of the related substances in ampicillin capsule by rapid resolution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2014:397492, 2014. URL http://dx.doi.org/10.1155/2014/397492.

Tong Zhang, Chunlan Mao, Ningning Zhai, Xiaojiao Wang et Gaihe Yang : Influence of initial ph on thermophilic anaerobic co-digestion of swine manure and maize stalk. *Waste Manag*, 35:119–126, Jan 2015. URL http://dx.doi.org/10.1016/j.wasman.2014.09.004.

Yusun Zhou, Tingting Zhou, Hua Jin, Tao Jing, Bin Song, Yikai Zhou, Surong Mei et Yong-Ill Lee : Rapid and selective extraction of multiple macrolide antibiotics in

foodstuff samples based on magnetic molecularly imprinted polymers. *Talanta*, 137 (0):1 – 10, 2015. ISSN 0039-9140. URL http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0039914015000132.

N° d'identification :

TITRE

La méthanisation : principe et inhibition par les antibiotiques

Thèse soutenue le 17 Juin 2016

Par Paul TATANGELO

RESUME :

La méthanisation consiste en la transformation biologique de la matière organique sous l'action de microorganismes, en milieu anaérobie. Les produits obtenus sont le biogaz (en particulier du méthane) et des sous-produits liquides ou solides. Le méthane pourra être à l'origine de la production de chaleur et d'électricité. Il s'agit, associé à d'autres modes de production d'énergie, d'une réponse à la demande croissante énergétique au niveau mondial, et à la nécessité de remplacer les sources actuelles par de l'énergie « verte ». Il existe de nombreux effluents envisageables pour ce processus. Un des plus courants est le lisier issu de l'élevage bovin.

Cependant, la méthanisation peut être inhibée par les substances présentes dans le réacteur. Cette étude se concentrera particulièrement sur l'inhibition par les antibiotiques, administrés classiquement aux bovins durant l'élevage et retrouvés dans le lisier. Nous avons, par une série d'expérimentations, évalué l'effet de la colistine et de la streptomycine, deux antibiotiques couramment administrés aux bovins durant l'élevage, sur la méthanisation du lisier de ces animaux. Cette étude a été réalisée par mise en contact, dans des réacteurs batch de lisier, avec de la streptomycine (milieux concentrés à 0,8, 8 et 80 mg/L) ou de la colistine (milieux concentrés à 0,01, 0,1 et 1 mg/L), puis à la méthanisation de ces échantillons. Le volume de biogaz et de méthane produit a été suivi durant 90 jours.

Nous avons pu observer une inhibition partielle de la méthanisation dans les milieux réactionnels contenant de la streptomycine : un ralentissement du processus pour des milieux concentrés à 0,8 et 8 mg/L en streptomycine, et une diminution du volume de biogaz produit au terme des 90 jours pour un milieu concentré à 80 mg/L.

La première partie de cette thèse est consacrée à la description de la méthanisation, en particulier aux étapes de son déroulement, aux paramètres physico-chimiques et bactériologiques ayant un impact sur ce processus, ainsi qu'à ses effluents et produits.

Ensuite, les différents antibiotiques sur le marché en France à l'usage des bovins et leur usage ont été étudiés, puis une revue de substances pouvant couramment inhiber la méthanisation a été réalisée. Enfin, l'étude expérimentale concernant la méthanisation en présence de streptomycine et de colistine est présentée.

MOTS CLES : méthanisation, inhibition, antibiotiques, colistine, streptomycine

Directeur de thèse	**Intitulé du laboratoire**	**Nature**	
Nouceiba Adouani Raphael Duval	LRGP	**Expérimentale** **Bibliographique** **Thème**	X X 2

Thèmes **1 – Sciences fondamentales** **2 – Hygiène/Environnement**
3 – Médicament **4 – Alimentation – Nutrition**
5 - Biologie **6 – Pratique professionnelle**

FACULTE DE PHARMACIE **UNIVERSITE DE LORRAINE**

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 17 Juin 2016

DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

présenté par : Paul TATANGELO

Sujet : La méthanisation : principe et inhibition par les antibiotiques

Jury :

Président et Directeur : M. Raphael Duval, Professeur
Directeur : Mme. Nouceiba Adouani, Maitre de conférences
Juges : M. Jean-Claude Block, Professeur
Mme Béatrice Demore, Maitre de conférences

Vu,

Nancy, le 23/05/16

Le Président du Jury — Directeur de Thèse

M. Raphael DUVAL — M.me Nouceiba Adouani

Vu et approuvé,

Nancy, le 26.05.2016

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,

Francine PAULUS

Vu,

Nancy, le 31 MAI 2016

Le Président de l'Université de Lorraine,

Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 9124