



Université
de Limoges



29 octobre 2019

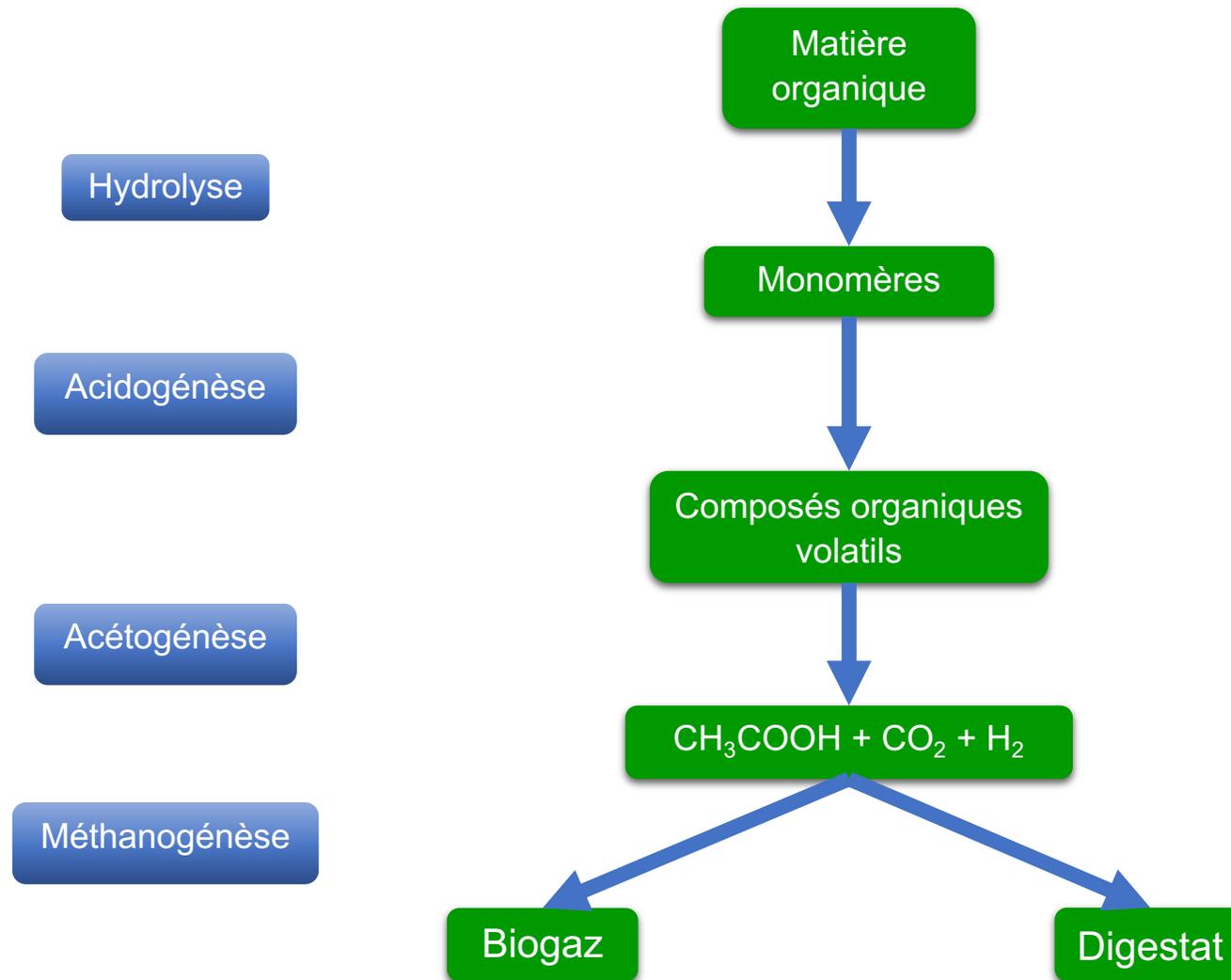
Impact de la digestion anaérobie sur l'abattement de la concentration en micro-organismes pathogènes dans le digestat

Cédric Delmon, Audrey Prorot, Magali Casellas-Français

Introduction

La méthanisation

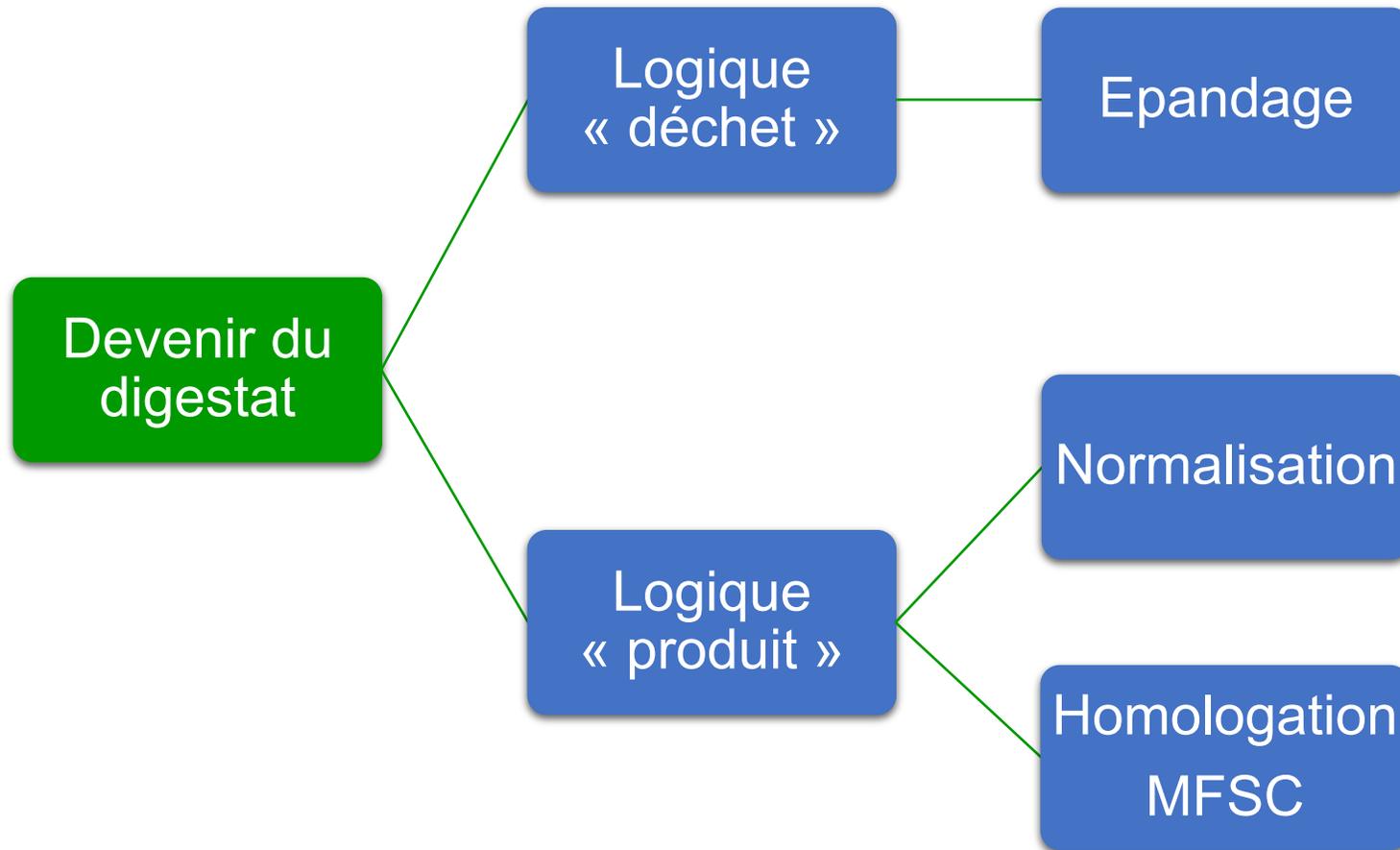
(Escudie et al., 2017)



Aspects sanitaires du digestat

(Ministère de l'agriculture, 2018)

Réglementation du digestat



Paramètres influençant les propriétés hygiénisantes de la méthanisation

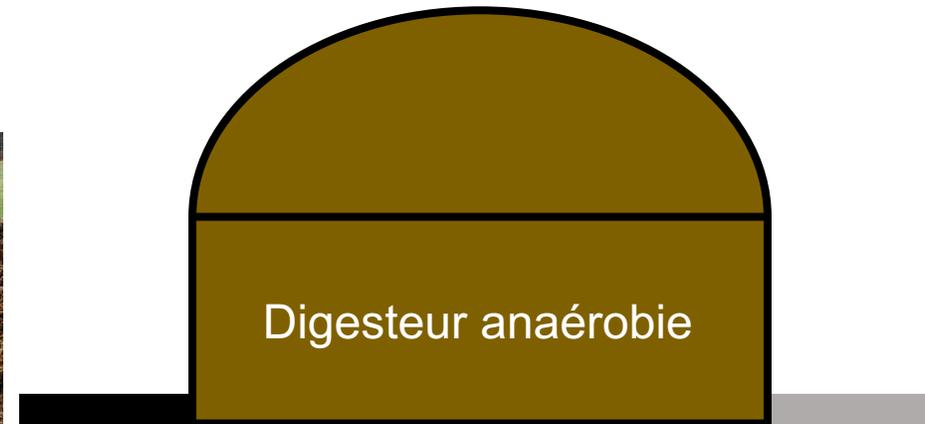
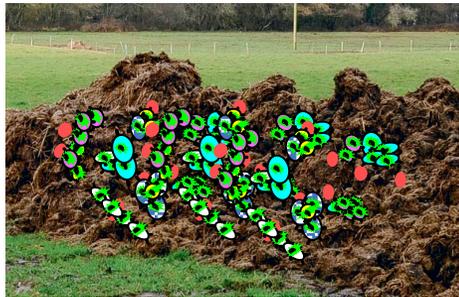
(Pourcher *et al.*, 2016; Skillman *et al.*, 2009; Sahlström *et al.*, 2002)

Temps de séjour dans le méthaniseur

Interactions microbiennes

pH / Acides Gras Volatils

Température



Régimes de température de méthanisation

(Pourcher *et al.*, 2016)

Deux températures de méthanisation

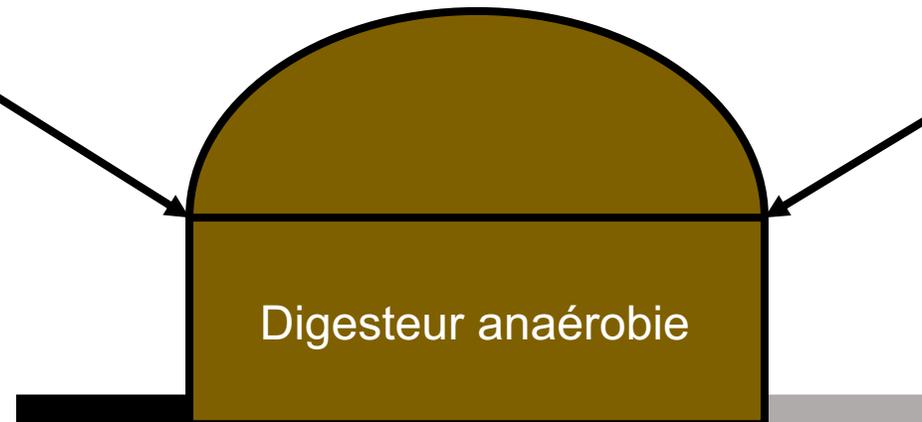
Régime mésophile

≈ 37°C

OU

Régime thermophile

≈ 55°C

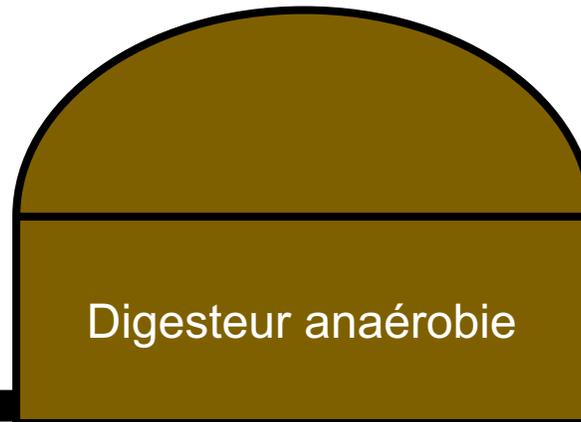
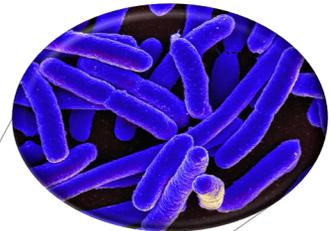
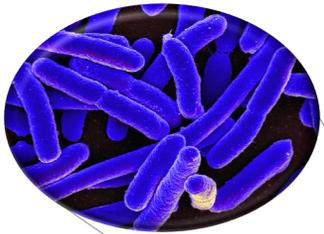


Objectifs

Abattement significatif ?

Différents abattements selon le pathogène considéré ?

Influence de la température ?



Matériel et méthodes

Intrants étudiés

Echantillons prélevés sur une unité de méthanisation agricole

Fumier



[MV] = 0,07 g/g de MB

Céréales



[MV] = 0,18 g/g de MB

Pommes



[MV] = 0,05 g/g de MB

Mélange trémie
(= fumier + céréales)



[MV] = 0,05 g/g de MB

Matières de vidange



[MV] = 0,4 g/g de MB

Analyse individuelle du potentiel d'hygiénisation de la méthanisation (Office fédéral de l'énergie, 2011)

Analyse qualitative et quantitative de la production de biogaz



Echantillon + Inoculum
[MV] = 1/5 [MV] = 4/5
(en triplicat)

Incubation à 37°C ou 55°C
(mésophile ou thermophile)

Mesure du volume de biogaz produit par un échantillon

Analyse des gaz en Chromatographie en phase gazeuse



Analyse individuelle du potentiel d'hygiénisation de la méthanisation

Evaluation du potentiel d'hygiénisation



Caractérisation microbiologique avant et après les tests BMP



Caractérisation microbiologique

(Norme NF EN ISO 7899-1, Norme NF EN ISO 9308-3)



C. perfringens

Gélose en tubes

Milieu TSN
Tryptone-Sulfite-
Néomycine

Entérocoques

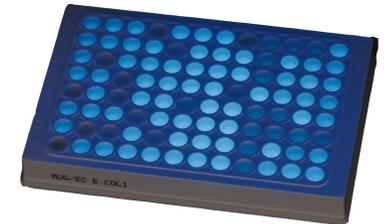
Microplaques

Milieu MUD
4-méthylumbelliféryl- β -
D-glucopyranoside

E. coli

Microplaques

Milieu MUG
4-méthylumbelliféryl- β -
D-glucuronide



Dénombrement par dilutions décimales
(formes totales et spores)

Dénombrement par la méthode NPP

Résultats et discussion

Résultats des tests BMP

Mesure du potentiel méthanogène

| Production de méthane (mL de CH ₄ par gramme de MV) | | |
|--|------------------|--------------------|
| Intrants | Régime mésophile | Régime thermophile |
| Pommes | 121 | 270 |
| Céréales | 329 | 372 |
| Fumier | 170 | 197 |
| Trémie | 276 | 314 |
| Matières de vidange | 0 | 0 |

Pas de production de méthane par les matières de vidange
Production de méthane plus importante en régime thermophile

Caractérisation microbiologique (1)

Régime mésophile

Caractérisation microbiologique avant et après les tests BMP

Concentration initiale (Ci) et abattement (Ab.) de la concentration en agents pathogènes suite à des tests BMP mésophile :

Ci = UFC/mL et Ab. en \log_{10}

| Intrants | <i>E. coli</i> | | Entérocoques | | <i>Clostridium</i> totaux | | Spores de <i>Clostridium</i> | |
|---------------------|------------------|-----|------------------|-----|---------------------------|-----|------------------------------|-----|
| | Ci | Ab. | Ci | Ab. | Ci | Ab. | Ci | Ab. |
| Pommes | $6,7 \cdot 10^5$ | 2,6 | $1,1 \cdot 10^6$ | 1,5 | $9,8 \cdot 10^3$ | 0 | $8,1 \cdot 10^3$ | 0 |
| Céréales | $6,7 \cdot 10^5$ | 2,1 | $1,1 \cdot 10^6$ | 1,7 | $1,1 \cdot 10^4$ | 0 | $9,1 \cdot 10^3$ | 0 |
| Fumier | $6,8 \cdot 10^5$ | 2 | $1,1 \cdot 10^6$ | 1,9 | $1,1 \cdot 10^4$ | 0 | $8,8 \cdot 10^3$ | 0 |
| Trémie | $7,1 \cdot 10^5$ | 2 | $1,7 \cdot 10^6$ | 1,9 | $1 \cdot 10^4$ | 0 | $8,7 \cdot 10^3$ | 0 |
| Matières de vidange | $1 \cdot 10^4$ | 0 | $5,7 \cdot 10^3$ | 0 | $1,5 \cdot 10^4$ | 0 | $1,3 \cdot 10^4$ | 0 |

Abattement plus important si tests BMP thermophile ?

Caractérisation microbiologique (2)

Régime thermophile

Caractérisation microbiologique avant et après les tests BMP

Concentration initiale (Ci) et abattement (Ab.) de la concentration en agents pathogènes suite à des tests BMP mésophile :

Ci = UFC/mL et Ab. en \log_{10}

| Intrants | <i>E. coli</i> | | Entérocoques | | <i>Clostridium</i> totaux | | Spores de <i>Clostridium</i> | |
|---------------------|------------------|-----|------------------|-----|---------------------------|-----|------------------------------|-----|
| | Ci | Ab. | Ci | Ab. | Ci | Ab. | Ci | Ab. |
| Pommes | $6,7 \cdot 10^5$ | 1,3 | $1,1 \cdot 10^6$ | 1,4 | $9,8 \cdot 10^3$ | 0 | $8,1 \cdot 10^3$ | 0 |
| Céréales | $6,7 \cdot 10^5$ | 0,9 | $1,1 \cdot 10^6$ | 1,2 | $1,1 \cdot 10^4$ | 0 | $9,1 \cdot 10^3$ | 0 |
| Fumier | $6,8 \cdot 10^5$ | 1 | $1,1 \cdot 10^6$ | 1 | $1,1 \cdot 10^4$ | 0 | $8,8 \cdot 10^3$ | 0 |
| Trémie | $7,1 \cdot 10^5$ | 0,6 | $1,7 \cdot 10^6$ | 0,7 | $1 \cdot 10^4$ | 0 | $8,7 \cdot 10^3$ | 0 |
| Matières de vidange | $1 \cdot 10^4$ | 0 | $5,7 \cdot 10^3$ | 0 | $1,5 \cdot 10^4$ | 0 | $1,3 \cdot 10^4$ | 0 |

Pas d'abattement de la concentration en *Clostridium*
Abattement moins important suite à des tests BMP réalisés en thermophile

Discussion

(Pourcher *et al.*, 2008; Pourcher *et al.*, 2016)

| | Mésophile | Thermophile |
|-------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| Production de CH ₄ | ++ | +++ |
| Abattement | +++ sauf <i>Clostridium</i> | ++ sauf <i>Clostridium</i> |

Caractérisation microbiologique

Pas d'abattement de la concentration en *Clostridium*
Abattement moins important suite à des tests BMP réalisés en thermophile

Mesure du potentiel méthanogène

Pas de production de méthane par les matières de vidange
Production de méthane plus importante en régime thermophile

Abattement de la concentration en agents pathogènes (Pourcher *et al.*)

- Régime mésophile : = 2 log sauf spores
- Régime thermophile : > 4 log sauf spores

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Conclusion

- Abattement significatif de la concentration en entérocoques et *E. coli*
- Abattement moins important en régime thermophile
- Pas d'abattement de la concentration en *C. perfringens*

Perspectives

- Effectuer de nouveaux tests BMP avec les matières de vidange
=> changement de ratio ?
- Trouver des traitements potentialisant l'effet hygiénisant de la méthanisation ?

Merci pour votre attention



Bibliographie

AFNOR, 2006 : Norme NFU 44-051 : Amendements organiques : dénominations, spécifications et marquage

ANSES, 2013 : Note d'information aux pétitionnaires concernant l'homologation des MFSC

Escudie *et al.*, 2017: Méthanisation de la biomasse

Ministère de l'agriculture, 2018 : Arrêté du 9 avril 2018 fixant les dispositions techniques nationales relatives à l'utilisation de sous-produits animaux et de produits qui en sont dérivés, dans une usine de production de biogaz, une usine de compostage ou en «compostage de proximité», et à l'utilisation du lisier

Norme NF EN ISO 9308-3 : Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux de surface et résiduaires - Partie 3 : méthode miniaturisée (nombre le plus probable) pour ensemencement en milieu liquide

Norme NF EN ISO 7899-1 : Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des entérocoques intestinaux dans les eaux de surface et résiduaires - Partie 1 : méthode miniaturisée (nombre le plus probable) par ensemencement en milieu liquide

Office fédéral de l'énergie, 2011 : Optimisation des tests standardisés de digestibilité dans des réacteurs batch

Pourcher *et al.*, 2008 : Impact of temperature-time combinations on enteric bacteria in separated solids from pig manure

Pourcher *et al.*, 2016 : Impact de la digestion anaérobie sur les bactéries indicatrices et les micro-organismes pathogènes.

Sahlström *et al.*, 2002 :A review of survival of pathogenic bacteria in organic waste used in biogas plants.
National veterinary institute, Uppsala, Sweden. Bioresource technology 87

Skillman *et al.*, 2009 : Influence of high gas production during thermophilic anaerobic digestion in pilot-scale and lab-scale reactors on survival of the thermotolerant pathogens *Clostridium perfringens* and *Campylobacter jejuni* in piggery wastewater