



**HAL**  
open science

# Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : Nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique

Remy Albrecht

► **To cite this version:**

Remy Albrecht. Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : Nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique. Sciences de la Terre. Université de droit, d'économie et des sciences - Aix-Marseille III, 2007. Français. NNT : . tel-00174775

**HAL Id: tel-00174775**

**<https://theses.hal.science/tel-00174775>**

Submitted on 25 Sep 2007

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# UNIVERSITE PAUL CEZANNE AIX-MARSEILLE III

TITRE :

CO-COMPOSTAGE DE BOUES DE STATION D'EPURATION ET DE DECHETS

VERTS : NOUVELLE METHODOLOGIE DU SUIVI DES TRANSFORMATIONS DE LA

MATIERE ORGANIQUE

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE Paul CEZANNE

Faculté des Sciences et Techniques

Discipline : Biosciences de l'Environnement

Ecole doctorale : Sciences de l'Environnement

Présentée et soutenue publiquement le 11 mai 2007 par

**Remy ALBRECHT**

JURY

S. HOUOT  
C. STEINBERG  
S. ROUSSOS  
J. LE PETIT  
D. CARRON  
G. TERROM  
C. PERISSOL

INRA, Grignon  
INRA, Dijon  
IRD, Université Paul Cézanne  
Université Paul Cézanne  
Pöyry Environment  
Société Téclis SARL  
Université Paul Cézanne

Rapporteur  
Rapporteur  
Examineur  
Examineur  
Examineur  
Directeur de thèse  
Co-Directeur de thèse

ANNEE : 2007

## **Co-compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts : Nouvelle méthodologie du suivi des transformations de la matière organique**

### **Résumé**

Afin d'éliminer et de valoriser les biodéchets, de nombreuses collectivités ont opté pour une plate-forme de compostage. Les exigences de qualité des composts nécessitent actuellement un nombre important de caractérisations physico-chimiques et biologiques. Nos objectifs ont donc été d'étudier les processus du compostage et de mettre au point une méthode simple et efficace de suivi de l'évolution chimique et biologique des composts. Notre étude a porté sur un compostage de six mois en andains constitués d'un mélange de boues de station d'épuration urbaines et de déchets verts broyés. Les composts ont été caractérisés par des paramètres physico-chimiques (analyses élémentaires, matières organiques, substances humiques et lignine, Résonance Magnétique Nucléaire  $^{13}\text{C}$  du solide) et biologiques (respiration, dénombrement des micro-organismes et changements des profils métaboliques des communautés microbiennes, activités enzymatiques) qui ont mis en évidence la minéralisation et l'humification de la matière organique. Une banque de données établie à partir de 432 composts a ensuite démontré l'efficacité de la Spectroscopie Proche InfraRouge (SPIR) pour distinguer les composts suivant leur maturité. Enfin, aucun paramètre n'étant utilisable seul, l'ensemble des informations a été synthétisé par ACP en un Indice global d'Evolution du Compostage (IEC) parfaitement calibré en SPIR par la méthode PLS et permettant une détermination simple et précise de la maturité. Cette alliance SPIR-IEC pourrait être appliquée à l'optimisation d'un nouveau procédé de compostage en réacteur en cours de développement.

**Mots clefs** : compost, boues de station d'épuration, déchets verts, maturité, substances humiques, respiration, activités enzymatiques, communautés microbiennes, RMN  $^{13}\text{C}$  du solide, SPIR.

---

## **Co-composting of sewage sludge and green wastes: new methodology to assess organic matter transformations**

### **Abstract**

To reduce and recycle biowaste volumes, many cities have chosen to build municipal composting plants. Presently, compost quality determination requires many biological and chemical characterizations. Aims of this study were to characterize composting processes and to develop a simple and valuable method to assess biological and chemical evolution of composts. Compost windrows obtained from municipal solid wastes mixed to green wastes, were matured during six months. Composts were characterized by chemical (elemental analysis, organic matter, lignin, humic substances and  $^{13}\text{C}$  NMR) and biological methods (respiration, micro-organism enumeration, metabolic profile modifications of microbial communities, enzymatic activities) and revealed mineralization and humification of organic matter. Efficiency of Near InfraRed Spectroscopy (NIRS) was then demonstrated with help of a data bank establishing from 432 composts. Finally, since no parameter can be used alone, a global index of composting evolution (GICE) was synthesized by PCA from the whole of information and was perfectly calibrated by NIRS with PLS method. GICE should be a simple and efficiency tool of maturity determination. This NIRS-PCA strategy could be applied to the optimization of a new composting process in reactor which is in development.

**Key words**: compost, sewage sludges, green wastes, maturity, humic substances, respiration, enzymatic activities, microbial community,  $^{13}\text{C}$  NMR, NIRS.

# Remerciements

---

Je remercie tout d'abord les membres de mon jury, et notamment les deux rapporteurs Madame Sabine Houot et Monsieur Christian Steinberg, Directeurs de Recherche, pour avoir accepté de juger ce travail.

Malgré les apparences, cette page est la plus difficile à rédiger. Comment dire en si peu de mots toute ma reconnaissance aux personnes qui m'ont toujours encouragé dans la réalisation de ce travail...

Je voudrais d'abord remercier mes deux Directeurs de thèse, Madame Claude Périssol et Monsieur Gérard Terrom, pour leur soutien et leurs précieux conseils afin de mener à bien cette thèse. J'aimerais remercier tout particulièrement Monsieur le Professeur Emérite Jean Le Petit pour son appui et son intarissable flot d'idées, très bénéfique à mon travail.

Je tiens également à remercier Monsieur Didier Carron et la Société Pöyry Environment pour son appui, Monsieur Richard Joffre pour son aide précieuse, Monsieur Claude Nervi et la société Biotechna pour leur soutien logistique, ainsi que Madame Nadine Pouillard, Directrice générale des services et Messieurs André Guiol et Jean Ridelle Berger, Président et Vice-Président du SIVED.

Je voudrais également remercier Monsieur Bernard Vigne, responsable du Pôle Déchets de l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME) PACA, le Conseil Régional Provence-Alpes-Côte d'Azur et le Conseil Général du Var pour leur soutien financier.

Les remerciements sont un exercice difficile. A chercher une diplomatie déférente, on en oublie la sincérité du merci. Du simple lecteur aux personnes qui ont consacré de leur temps et de leur énergie, pour m'aider dans ce travail, à tous je voudrais adresser mes remerciements.

Enfin, je dédicace ce travail à mes parents qui m'ont soutenu et encouragé durant toutes ces années. Je les remercie du fond du coeur pour m'avoir permis d'aller aussi loin dans mes études. Merci également à Julie pour son amour, ses encouragements et son soutien pendant ces années.

# Table des matières

---

<b>Préambule .....</b>	<b>12</b>
<b>Introduction générale.....</b>	<b>13</b>
<b>Chapitre I. Synthèse bibliographique.....</b>	<b>16</b>
I.1. Le compostage.....	17
I.1.1. Définition du compostage .....	17
I.1.2. Les mécanismes impliqués.....	17
I.1.3. Les micro-organismes du compost.....	20
I.1.3.1. Les bactéries.....	20
I.1.3.2. Les champignons .....	21
I.1.3.3. Les algues, les protozoaires et les animaux pluricellulaires .....	22
I.1.4. Objectifs du compostage .....	23
I.1.4.1. Effets physico-chimiques du compost sur les sols.....	23
I.1.4.2. Valorisation agronomique des composts par apport d'éléments fertilisants..	23
I.1.4.3. Amélioration des aspects biologiques des sols amendés.....	27
I.1.4.4. Effets remédiant des amendements organiques .....	27
I.1.4.5. Effet de serre .....	28
I.1.4.6. Le compostage et son effet hygiénisant .....	28
I.1.5. Quels déchets composter ? .....	30
I.1.5.1. Les boues de station d'épuration .....	30
I.1.5.2. Les déchets verts.....	30
I.1.5.3. Les déchets ménagers.....	30
I.1.6. Les différents procédés de compostage.....	31
I.1.6.1. Compostage en andains .....	31
I.1.6.2. Compostage en récipients clos.....	33
I.1.6.3. Vermicompostage .....	36
I.1.7. Cadre réglementaire des matières fertilisantes.....	37
I.2. Aspects biochimiques du compostage.....	38
I.2.1. Substances non humiques : structure et dégradation.....	38
I.2.1.1. Les glucides .....	38
I.2.1.2. La lignine et le complexe lignocellulosique .....	40
I.2.1.3. Les protéines .....	43
I.2.1.4. Les lipides.....	43
I.2.1.5. Polyesters lipidiques .....	43
I.2.1.6. Les tanins.....	46
I.2.2. Substances humiques.....	47
I.2.3. Evolution de la matière organique .....	52
I.2.3.1. Dégradations particulières .....	52
I.2.3.2. Minéralisation et humification .....	55
I.3. Qualité du compost.....	59
I.3.1. Définition de la qualité d'un compost .....	59
I.3.2. Recherche de la maturité .....	60
I.3.3. Evolution et humification de la matière organique .....	61
I.3.3.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN).....	61

I.3.3.2.	<i>La spectroscopie UV- visible</i> .....	62
I.3.3.3.	<i>La spectroscopie proche infrarouge (SPIR)</i> .....	63
I.3.3.4.	<i>La spectroscopie infrarouge (IR)</i> .....	63
I.3.3.5.	<i>Analyse par pyrolyse</i> .....	63
I.3.4.	Les critères d'évaluation de la maturité d'un compost .....	64
I.3.4.1.	<i>Méthodes empiriques</i> .....	65
I.3.4.2.	<i>Caractéristiques physico-chimiques classiques</i> .....	65
I.3.4.3.	<i>Activités biologiques</i> .....	67
I.3.4.4.	<i>Valeurs agronomiques, tests sur plantes</i> .....	69
	Conclusion de l'étude bibliographique et objectifs de travail.....	72

## **Chapitre II. Matériels & Méthodes ..... 74**

II.1.	Composts étudiés.....	75
II.1.1.	Procédé de compostage .....	75
II.1.2.	Protocole d'échantillonnage .....	76
II.2.	Caractérisations physiques et chimiques.....	78
II.2.1.	Mesure de la température .....	78
II.2.2.	Mesure du pH .....	78
II.2.3.	Matière sèche.....	78
II.2.4.	Matière organique .....	78
II.2.5.	Analyses élémentaires : C et N .....	79
II.2.6.	Analyses du phosphore organique et minéral .....	79
II.2.7.	Dosage des ions ammonium et nitrate.....	80
II.2.8.	Teneur en acides humiques et fulviques .....	80
II.2.9.	Extraction de la lignine .....	81
II.2.10.	Spectroscopie UV - visible.....	82
II.2.11.	Spectroscopie proche infrarouge (SPIR).....	82
II.2.12.	Résonance Magnétique Nucléaire <sup>13</sup> C du solide .....	82
II.3.	Caractérisations biologiques .....	83
II.3.1.	Mesure de la respiration du compost.....	83
II.3.2.	Activités enzymatiques .....	83
II.3.3.	Dénombrements microbiens.....	85
II.3.4.	Profils métaboliques bactériens et fongiques (Biolog <sup>®</sup> ) .....	87
II.4.	Analyses statistiques .....	89
II.4.1.	Analyse de variance .....	89
II.4.2.	Corrélation linéaire (coefficient r de Pearson) .....	89
II.4.3.	Analyses multivariées .....	89

## **Chapitre III. Mécanismes physico-chimiques du compostage ..... 92**

III.1.	Décomposition et minéralisation.....	93
III.1.1.	Humidité et température .....	94
III.1.2.	Evolution du pH .....	95
III.1.3.	Matière organique (MO) et analyses élémentaires.....	96
III.2.	Humification.....	98
III.2.1.	Fractionnement humique.....	98
III.2.2.	Fractionnement chimique de la lignine .....	100
III.2.3.	Spectroscopie UV – visible .....	100
III.3.	Caractérisation par Résonance Magnétique Nucléaire.....	103

III.3.1.	Caractérisations des mécanismes du compostage .....	103
III.3.2.	Analyses multivariées des données RMN .....	108
III.3.3.	Influence des facteurs chimiques sur l'humification.....	110
	<i>Conclusion chapitre III</i> .....	112
<b>Chapitre IV. Activités biologiques pendant le compostage .....</b>		<b>113</b>
IV.1.	Evolution des communautés microbiennes .....	114
IV.1.1.	Dénombrements microbiens.....	114
IV.1.2.	Profils métaboliques .....	117
IV.1.3.	Classification des composts suivant leur AWCD .....	118
IV.1.4.	Analyse en composante principale des CLPP .....	120
IV.1.5.	Diversité métabolique et maturité .....	124
IV.2.	Activité biologique .....	125
IV.2.1.	Respiration .....	125
IV.2.2.	Activités enzymatiques .....	127
IV.2.3.	Analyse multivariée des activités biologiques .....	133
	<i>Conclusion chapitre IV</i> .....	135
<b>Chapitre V. Caractérisation de la matière organique des composts par spectroscopie proche infrarouge .....</b>		<b>136</b>
V.1.	Construction d'une banque de données SPIR .....	137
V.1.1.	La spectroscopie proche infrarouge .....	137
V.1.2.	Structure et organisation de la banque de données.....	137
V.1.3.	Traitement des données SPIR .....	138
V.1.4.	Analyses chimiques.....	139
V.2.	Effet des facteurs spatio-temporels sur les données spectrales .....	139
V.3.	Changements spectraux de la matière organique par SPIR.....	142
V.4.	Capacité de prédiction par SPIR .....	145
	<i>Conclusion chapitre V</i> .....	148
<b>Chapitre VI. Stabilisation de la matière organique et maturité des composts.....</b>		<b>149</b>
VI.1.	Emploi de paramètres chimiques et biologiques pour estimer la stabilisation et la maturité des composts .....	150
VI.1.1.	Qualité des indices de maturité .....	150
VI.1.2.	Globalisation de l'information .....	152
VI.2.	Application de la SPIR pour suivre les transformations de la matière organique pendant le compostage .....	154
VI.3.	Utilisation de la SPIR pour prédire les différents paramètres chimiques et biologiques .....	156
VI.3.1.	Prédictions des paramètres chimiques et biologiques .....	156
VI.3.2.	Proposition d'un indice global d'évolution du compostage.....	161
	<i>Conclusion chapitre VI</i> .....	163
<b>Conclusion générale .....</b>		<b>164</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>		<b>170</b>

# Table des illustrations

## Liste des Figures

<b>Figure 1</b> : Processus théoriques mis en jeu pendant le compostage d'après Itävaara et al. (1995).....	18
<b>Figure 2</b> : Courbe théorique d'évolution de la température et du pH au cours du compostage d'après Mustin (1987).....	19
<b>Figure 3</b> : Schéma du cycle de l'azote lié à un apport de compost d'après Francou (2003).....	25
<b>Figure 4</b> : Exemple d'andains retournés .....	32
<b>Figure 5</b> : Schéma du tas statique aéré d'après FAO (2005).....	33
<b>Figure 6</b> : Compostage en casier.....	34
<b>Figure 7</b> : Système de compostage en lits rectangulaires remués d'après FAO (2005).....	35
<b>Figure 8</b> : Utilisation de vers en lombricompostage .....	36
<b>Figure 9</b> : Structure de la cellulose : (a) Deux molécules de glucose liées par une liaison $\beta$ -1,4 glycosidique; (b) Liaisons hydrogène entre deux chaînes de cellulose; (c) Structure fibrillaire de la cellulose (Extrait de Kögel-Knabner, 2002).....	39
<b>Figure 10</b> : Exemple d'une unité d'hémicellulose : Arabino-4-O-méthyl-glucurono-xylane (Extrait de Kögel-Knabner, 2002).....	40
<b>Figure 11</b> : Structure des précurseurs de la lignine. (I) : Alcool p-coumarylique ; (II) : Alcool coniférylique ; (III) : Alcool sinapylique ; d'après Kögel-Knabner (2002).....	41
<b>Figure 12</b> : Structure des liaisons principales dans la lignine (Extrait de Kögel-Knabner, 2002).....	41
<b>Figure 13</b> : Modèle de lignine tridimensionnelle (Extrait de Kögel-Knabner, 2002).....	42
<b>Figure 14</b> : Modèle de lignine linéaire (Extrait de Banoub et Delmas, 2003).....	42
<b>Figure 15</b> : Monomères et structure de la cutine (Extrait de Kolattukudy, 1980).....	44
<b>Figure 16</b> : Modèle de la subérine de pomme de terre. Les connections indiquées sont respectivement C : polysaccharide ; P : groupe phénolique et S : subérine (Extrait de Bernards, 2002).....	45
<b>Figure 17</b> : Unités de base de tanins hydrolysables : (a) acide gallique (b) acide ellagique (Extrait de Kogel-Knaber, 2002).....	46
<b>Figure 18</b> : Structure des tanins condensés (Extrait de Kogel-Knaber, 2002).....	47
<b>Figure 19</b> : Acides humiques par HPSEC dans quatre phases mobiles: A (Na NO <sub>3</sub> , 0,05 M, pH 7), B (A + méthanol : 4,6.10 <sup>-7</sup> M, pH 6,97), C (A + acide chlorhydrique: 2.10 <sup>-6</sup> M, pH 5,54), D (A + acide acétique: 4,6.10 <sup>-7</sup> M, pH 5,59), d'après Conte & Picollo (1999).....	49
<b>Figure 20</b> : Structure des substances humiques selon Wershaw (1989), A : molécule amphiphile non lipidique, B : molécule amphiphile lipidique .....	50
<b>Figure 21</b> : Modèle d'acides humiques d'après Schulten & Leinweber (2000), les éléments colorés sont : H (blanc), C (cyan), O (rouge), N (bleu) et S (jaune).....	51
<b>Figure 22</b> : Modèle de structure des composés humiques (Andreux & Munier-Lamy, 1994).....	52

<b>Figure 23</b> : (a) Coupure par une lignine peroxydase de la structure non phénolique interne arylglycérol- $\beta$ -aryl éther de la lignine. (b) Coupure par une manganèse peroxydase de la structure terminal arylglycérol- $\beta$ -aryl éther de la lignine (Extrait de Hammel, 1997).....	55
<b>Figure 24</b> : Les quatre voies de l'humification (Stevenson, 1994) .....	56
<b>Figure 25</b> : Représentation schématique de la formation des substances humiques par la théorie polyphénolique .....	58
<b>Figure 26</b> : Classifications des signaux en CPMAS d'un acide humique (Extrait de Kogel-Knaber, 2002).....	62
<b>Figure 27</b> : Description du procédé de compostage en andains mise en œuvre par la société Biotechna (Bouches du Rhône).....	76
<b>Figure 28</b> : Facteurs d'échantillonnage pris en compte pour l'établissement de la banque de données.....	77
<b>Figure 29</b> : Extraction des acides humiques et fulviques par différence de solubilité en milieux basique et acide .....	80
<b>Figure 30</b> : Protocole d'extraction de la lignine (adapté d'après Quoc Lam et al. (2001).....	81
<b>Figure 31</b> : Protocole général d'analyses physico-chimiques et biologiques .....	88
<b>Figure 32</b> : Température et humidité mesurées pendant 180 jours de compostage (campagne C).....	95
<b>Figure 33</b> : Rapport entre les teneurs en matière organique (MO) et en carbone (C) pour les composts de la campagne B.....	97
<b>Figure 34</b> : a) Evolution des teneurs en lignine dans 20 composts de la campagne B, b) Corrélation significative entre le rapport lignine / AH et le temps de compostage .....	100
<b>Figure 35</b> : Spectre UV – visible de 11 composts de maturité différente (campagne B).....	101
<b>Figure 36</b> : Spectres RMN solide du $^{13}\text{C}$ de composts de la campagne B en fonction du temps de compostage	103
<b>Figure 37</b> : Carte factorielle produite par l'ACP des données RMN des 44 composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types.....	109
<b>Figure 38</b> : Carte factorielle et cercle de corrélations produits par l'ACP des données RMN et les variables additionnelles C, N, C/N,pH, MO, AH, AF, AH/AF (non actives dans l'ordination) des 44 composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types...	111
<b>Figure 39</b> : Dénombrement de la microflore totale (a), des bactéries sporulées (b), des actinomycètes (c) et de la flore fongique (d) et mesure de l'humidité des composts de la campagne B .....	114
<b>Figure 40</b> : Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des données de dénombrements microbiologiques des composts de la campagne B en fonction du temps de compostage .....	116
<b>Figure 41</b> : Classification hiérarchique des composts de la campagne B en fonction du temps de compostage, a) les microplaques Eco et b) les microplaques FF .....	119
<b>Figure 42</b> : Carte factorielle de l'ACP des composts de la campagne B en fonction des données AWCD de chaque substrat des microplaques Eco .....	120
<b>Figure 43</b> : Carte factorielle de l'ACP des composts de la campagne B en fonction des données AWCD de chaque substrat des microplaques FF .....	121
<b>Figure 44</b> : Evolution des valeurs de WCD en fonction du temps de compostage des substrats les plus influents sur PC1 de l'ACP des données Biolog Eco.....	122
<b>Figure 45</b> : Evolution des valeurs de WCD en fonction du temps de compostage des substrats les plus influents sur PC1 de l'ACP des données Biolog FF.....	123

<b>Figure 46</b> : Corrélation entre mesure de la respiration et humidité du compost (campagne de prélèvements B)	126
<b>Figure 47</b> : Evolution de l'humidité et des teneurs en $\text{NH}_4^+$ et $\text{NO}_3^-$ dans les composts de la campagne de prélèvements B	130
<b>Figure 48</b> : Relation entre les activités phosphatases et le rapport $P_{\text{inorg}} / (P_{\text{org}} + P_{\text{inorg}})$ des composts de la campagne B	132
<b>Figure 49</b> : Carte factorielle et cercle de corrélation produits par l'ACP des activités biologiques des composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types	133
<b>Figure 50</b> : Exemple d'absorbance brute et de dérivée seconde d'absorbance des spectres SPIR de six composts de maturité différente, a) spectre d'absorbance non transformé, b) dérivée seconde de l'absorbance	138
<b>Figure 51</b> : Evolution du rapport C/N de 60 composts de la campagne de prélèvements C	139
<b>Figure 52</b> : Carte factorielle et cercle de corrélations produit par l'ACP des profils de SPIR de 426 composts de la campagne C. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types	142
<b>Figure 53</b> : Graphiques de prédiction en fonction des valeurs réelles, pour C, N, C/N et le stade de compostage à partir des données SPIR (campagne C)	146
<b>Figure 54</b> : Carte factorielle produite par l'ACP des données chimiques et biologiques des 44 composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types	153
<b>Figure 55</b> : Carte factorielle produite par l'ACP des données SPIR des 44 composts de la campagne B. La flèche noire représente le temps de compostage	155
<b>Figure 56</b> : Graphiques des prédictions en fonction des valeurs réelles pour N, C, C/N, AH, AF, AH/AF, MO, pH, respiration, activités cellulase, protéase, phénoloxydase, phosphatases acides et alcalines et temps de compostage à partir des données SPIR	157
<b>Figure 57</b> : Graphique des prédictions des valeurs de PCI définissant l'indice global IEC en fonction des valeurs réelles à partir des données SPIR	162
<b>Figure 58</b> : Poids de chaque paramètre sur PCI de l'ACP des données chimiques et biologiques des composts de la campagne B constituant l'indice global IEC	163

## **Liste des Tableaux**

<b>Tableau 1</b> : Rôles des éléments minéraux	24
<b>Tableau 2</b> : Paramètres de stabilité et de maturité (en % d'apparition dans la littérature) extrait de A.D.A.S Consulting Limited (2005)	64
<b>Tableau 3</b> : Exemple de valeurs des principaux indicateurs de maturité	71
<b>Tableau 4</b> : Caractéristiques des composants initiaux et du compost final (suivi sur un an), mesures effectuées par la société Biotechna (Bouches du Rhône)	75

<b>Tableau 5</b> : Paramètres chimiques mesurés pendant 146 jours de compostage (campagne B) .....	93
<b>Tableau 6</b> : Résultats de l'analyse de variances pour N, C, C/N, matière organique, pH et Humidité par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney.....	93
<b>Tableau 7</b> : Extraction des acides humiques (AH) et fulviques (AF) pour les campagnes A et B .....	98
<b>Tableau 8</b> : Analyse des variances de AH, AF et du rapport AH / AF par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney...	99
<b>Tableau 9</b> : Absorbances UV - visible d'extraits alcalins de 11 composts de maturités différentes (campagne B) .....	102
<b>Tableau 10</b> : Valeurs des groupements carbonés définis selon Inbar et al. (1991), Vincelas-Akpa & Loquet (1997) et Almendros et al. (2000) à partir des intégrations des 44 spectres RMN des composts de la campagne B .....	104
<b>Tableau 11</b> : Analyse des variances (test de Wilcoxon-Mann-Whitney) des valeurs d'intégrations des groupes de carbone par RMN (campagne B) .....	105
<b>Tableau 12</b> : Evolution au cours du compostage de l'indice d'aromaticité, de l'estimation du contenu en lignine, du rapport Syringyle sur Guaiacyl (S/G) et du degré d'organisation de la cellulose calculés à partir des pics RMN (campagne B).....	106
<b>Tableau 13</b> : Corrélation entre les paramètres chimiques et les deux premières composantes principales de l'ACP des données RMN de composts de la campagne B.....	111
<b>Tableau 14</b> : Liste des substrats les plus influents sur le premier axe des ACP des données Biolog Eco et FF pour les composts de la campagne B. ....	122
<b>Tableau 15</b> : Mesure de la respiration des composts en andains des campagnes de prélèvements A et B .....	125
<b>Tableau 16</b> : Mesure des activités phosphatases acide et alcaline, cellulase, peroxydase, laccase et protéase sur les composts des campagnes de prélèvements A et B.....	128
<b>Tableau 17</b> : Résultats du dosage du phosphore organique ( $P_{org}$ ) et minéral ( $P_{inorg}$ ) dans les composts de la campagne de prélèvements B.....	132
<b>Tableau 18</b> : Influence des paramètres biologiques sur PCI de l'ACP des activités biologiques (campagne B) .....	134
<b>Tableau 19</b> : Résultats de six RDA à partir de trois facteurs spatiaux à partir des données SPIR (campagne C) .....	140
<b>Tableau 20</b> : Résultats de la RDA sur l'ensemble des données SPIR à partir de quatre facteurs spatio-temporels .....	141
<b>Tableau 21</b> : Contribution des longueurs d'onde représentant plus de 1 % de la variance sur PC2 de l'ACP des données SPIR .....	144
<b>Tableau 22</b> : Résultats des calibrations de N, C, C/N et du stade de compostage à partir des données SPIR (campagne C).....	145
<b>Tableau 23</b> : Résultats des calibrations de N, C, C/N, AH, AF, AH/AF, MO, pH, respiration, activités cellulase protéase, phénoloxydase, phosphatases acide et alcaline et temps de compostage à partir des données SPIR .	157
<b>Tableau 24</b> : Résultats des calibrations de l'indice global IEC à partir des données SPIR.....	162

# Liste des acronymes

---

ACP : Analyse en Composante Principale  
AF : Acides Fulviques  
AH : Acides Humiques  
ARISA : Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis  
AWCD : Average Well Color Development  
 $C_{inorg}$  : carbone inorganique  
 $C_{org}$  : carbone organique  
 $C_{tot}$  : carbone total  
CBM : caractérisation biochimique de la matière organique  
CDH : cellobiose déshydrogénases  
CLPP : Community Level Physiological Profiles  
CPMAS : Cross Polarisation Magic Angle Spinning  
DO : densité optique  
FDA : fluorescein diacetate  
IEC : indice d'évolution du compostage  
IR : spectroscopie InfraRouge  
ISB : Indice de Stabilité Biologique  
MO : Matière Organique  
MS : Matière Sèche  
PC : Principal Component  
 $P_{inorg}$  : phosphore inorganique,  $PO_4^{3-}$   
PLFA : PhosphoLipid Fatty Acids  
PLS : Partiel Least Square  
 $P_{org}$  : phosphore organique  
 $Q_{2/4}$  : rapport  $DO_{280} / DO_{472}$   
 $Q_{2/6}$  : rapport  $DO_{280} / DO_{664}$   
 $Q_{4/6}$  : rapport  $DO_{472} / DO_{664}$   
RDA : Redundancy Analysis ou analyse canonique de redondance  
RMN : Résonance Magnétique Nucléaire  
S/G : rapport entre les sous unités Syringyle et Guaiacyle  
SD : Standard Deviation ou écart type  
SEC : Standard Error of Calibration ou erreur standard de calibration  
SECV : Standard Error of Cross Validation ou erreur standard de validation croisée  
SPIR : Spectroscopie Proche InfraRouge

# Préambule

---

Afin d'éliminer en les valorisant des boues produites par les stations d'épuration d'eaux usées et des déchets verts, le co-compostage de ces deux éléments est devenu une technologie très couramment utilisée. Divers procédés de compostage existent, mais chacun présente des inconvénients importants et aucun d'entre eux ne parvient à résoudre totalement les problèmes liés à la qualité, à la traçabilité et au coût final des produits formés. Un procédé, intitulé CESAM (Composteur En Silo Aérateur Mélangeur) a ainsi été conçu autour d'un partenariat comprenant :

- le SIVED (Syndicat Intercommunal pour la Valorisation et l'Élimination des Déchets du Centre-Ouest Var), titulaire du brevet (Brevet français n°0309381 du 30 juillet 2003), soucieux du traitement des boues d'épuration et des déchets verts produits par les collectivités adhérentes ;
- la société Pöyry Environment chargée de la valorisation industrielle du procédé ;
- l'équipe d'Ecologie Microbienne de l'Institut Méditerranéen d'Ecologie et Paléoécologie (UMR CNRS 6116 - Université Paul Cézanne) qui se focalise sur les aspects physico-chimiques et biologiques du procédé.

Le procédé CESAM a pour but de réduire le temps de compostage à quelques semaines et de fabriquer un compost répondant à la fois à la norme NFU 44-095 et aux exigences des utilisateurs. L'innovation de ce procédé se situe dans le système de brassage forcé de la phase solide. Le pilote de 10 m<sup>3</sup> dispose de différents capteurs (mesure des pressions, des températures, de l'humidité, du débit d'air, du pH et de la conductivité des liquides récoltés), et de systèmes d'automatisation et de contrôle à distance. Le premier essai a révélé un problème de brassage des matières en réaction au niveau du cône dans le bas du silo. Cependant, les résultats obtenus, bien que très partiels, ont révélé une nette accélération des processus de compostage.

Une modification mécanique du réacteur a donc été décidée pour pallier à ce problème de brassage. Le choix des modifications nécessaires a été déterminé à partir des résultats d'une étude de trois mois sur l'écoulement et le déplacement des matières dans le réacteur grâce à l'utilisation d'un modèle réduit (600 L) et très simplifié du silo. De nombreux mélanges ont ainsi été effectués dans le but de comprendre les mécanismes régissant l'écoulement des matières. L'ajout d'un système de brassage horizontal a ainsi été décidé pour briser le « voutage » du compost. Un nouvel essai a donné lieu à une casse mécanique occasionnant des réparations avant la poursuite des tests. Cependant, un cône partant de la vis ascendante centrale vers l'extérieur du silo est apparu, démontrant ainsi l'efficacité du système de mélange. Pour simplifier la mise au point et l'optimisation du procédé CESAM, une étude méthodologique du suivi des transformations des matières organiques au cours du compostage a été réalisée sur des composts en andains, faisant l'objet de ce travail de thèse.

# *Introduction générale*

---

*« Nous n'héritons pas la terre de nos parents, nous l'empruntons à nos enfants »*

**Antoine de Saint-Exupéry**

L'eau consommée ou utilisée par l'homme génère inévitablement des déchets. Les eaux usées sont recueillies et dirigées vers les stations d'épuration afin d'être purifiées avant leur réintroduction dans le milieu naturel. Différents traitements permettent de séparer une eau épurée d'un résidu secondaire, les boues résiduaires. Ces boues, riches en matière organique, azote, phosphore et oligo-éléments, représentent environ 9,5 Mt soit 19 % des déchets municipaux français en 2006 (ADEME, 2006).

Par ailleurs, les déchets verts, constitués de résidus issus de l'entretien des espaces verts, des zones récréatives, des jardins privés, des serres ou des terrains de sports, sont une source importante de déchets organiques collectés par les municipalités. La quantité des déchets verts français s'élève à 4,5 Mt en 1999 selon le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement.

En raison des besoins grandissants de valorisation et d'élimination de ces déchets, trois voies principales sont utilisées : l'épandage, la mise en décharge et l'incinération. Une voie naturelle de valorisation comportant de nombreux avantages est le compostage. Ce procédé biologique aérobie de dégradation de la matière organique s'est fortement développé en France depuis quelques années et notamment la filière du co-compostage de déchets verts et de boues de stations d'épuration. Le compostage présente en effet les avantages de réduire les risques environnementaux liés à la gestion des déchets par la diminution de ces volumes et par la destruction des organismes pathogènes (Saebo & Ferrini, 2006). De plus, le compostage permet d'obtenir un amendement constitué d'une matière organique stable et humifiée renfermant des nutriments. Ce procédé de valorisation est l'une des biotechnologies les plus complexes qu'il soit quant à la compréhension des phénomènes impliquées, en raison des

changements d'états physiques et biologiques innombrables durant le processus. Il fait intervenir différentes communautés de microorganismes qui se succèdent, en fonction de leurs potentialités métaboliques au cours des différents stades de transformation de la matière organique et de son degré de maturité.

L'incorporation de compost au sol s'avère efficace pour lutter contre la dégradation de la surface du sol (Bresson et al., 2001) et pour améliorer sa porosité et sa structure (Pagliai et al., 2004). Les amendements organiques par applications de compost dans les sols permettent également une diminution de l'apport des engrais minéraux lixiviables. Ils améliorent durablement et efficacement la fertilité du sol (Guittonny-Larchevêque, 2004), favorisent les processus de reforestation en améliorant la nutrition et la croissance des plantes et, surtout augmentent leur potentiel de survie en période de sécheresse. Enfin, les amendements en matière organique stable accroissent le pouvoir tampon et la capacité d'échange des sols, deux paramètres conditionnant la nutrition minérale des plantes (Mustin, 1987).

La présent travail, effectué en collaboration avec la société Pöyry Environment et l'Association Nationale de la Recherche Technique (ANRT) grâce à la convention CIFRE 435/2003, avait pour premier objectif de mettre au point une méthodologie de suivi des mécanismes de transformations chimiques et biologiques menant à la stabilisation de la matière organique durant le compostage. Un second objectif était de proposer une méthode d'évaluation simple et efficace de la maturité des composts en vue du développement et de l'optimisation d'un nouveau procédé de compostage accéléré et contrôlé en réacteur.

Le manuscrit est divisé en six chapitres. Le premier se veut être une synthèse généraliste sur le compostage en abordant la notion de qualité. Cette synthèse part de la définition du procédé, des déchets et des intervenants au sein du processus vers une revue bibliographique des aspects biochimiques : minéralisation et humification des composés organiques constituant les déchets. Celle-ci se termine par une étude des critères d'évaluation de la maturité des composts.

Le deuxième chapitre présente, en premier lieu, les protocoles d'échantillonnage et les composts étudiés. Les analyses physico-chimiques de caractérisation des composts et les analyses biologiques sont successivement décrites. Enfin, les méthodes statistiques utilisées dans le cadre de ce travail sont développées.

Les résultats obtenus font l'objet des quatre chapitres suivants.

Le troisième chapitre entreprend d'explorer les mécanismes physico-chimiques impliqués dans le compostage des déchets verts et de boues de station d'épuration. Ils ont été établis d'une part, en mesurant des paramètres physico-chimiques tels que la température, l'humidité, le pH, le carbone organique, l'azote organique et minéral, le rapport  $C_{org}/N_{org}$ , les teneurs en matières organiques, en acides humiques et fulviques et, d'autre part, en utilisant la spectroscopie UV - visible et la Résonance Magnétique Nucléaire  $^{13}C$  du solide.

Le quatrième chapitre traite des activités microbiennes responsable des transformations biochimiques, des modifications dans l'importance des communautés microbiennes présentes et actives et, enfin, des activités enzymatiques variant en fonction des processus successifs et/ou simultanés de minéralisation et d'humification.

Le cinquième chapitre propose et expérimente un nouvel outil d'évaluation de la qualité des composts : la Spectroscopie Proche InfraRouge à travers la constitution d'une banque de données établis en utilisant les résultats obtenues à partir de 432 composts.

Bien que les processus inhérents au compostage puissent être examinés de multiples manières et sous différents angles (minéralisation des composés organiques, formation de substances humiques, aspects microbiologiques, activités biologiques ou encore variation des profils spectraux), il demeure absolument essentiel de connaître la qualité des informations. Dans cette optique, le sixième chapitre évalue la qualité des différents indices utilisés. Ce chapitre examine également l'ensemble des résultats en synthétisant l'information issue des méthodes chimiques et biologiques conventionnelles, en proposant et en validant un nouvel global d'évolution du compostage, intitulé indice d'évolution du compostage (IEC).

# *Chapitre I.*

## *Synthèse bibliographique*

---

# I.1. Le compostage

## I.1.1. Définition du compostage

Il existe de nombreuses définitions du compostage dans la littérature mais une définition très générale pourrait être : le compostage est un procédé biologique aérobie de dégradation et de transformation de la matière organique, permettant d'obtenir un produit valorisable à partir d'un déchet.

De façon plus précise, le compostage est défini selon Francou (2003) comme : « un processus contrôlé de dégradation des constituants organiques d'origine végétale et animale, par une succession de communautés microbiennes évoluant en conditions aérobies, entraînant une montée en température, et conduisant à l'élaboration d'une matière organique humifiée et stabilisée. Le produit ainsi obtenu est appelé compost. »

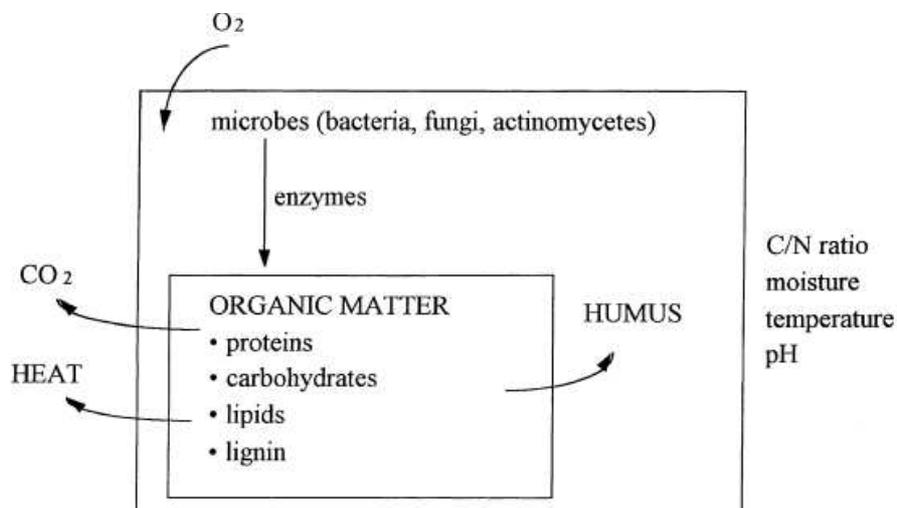
Le processus de compostage est similaire à celui de l'humification naturelle des résidus organiques en substances humiques dans les sols. Antizar-Ladislao *et al.* (2006) précisent que le compostage accélère la transformation biologique aérobie de la matière organique impliquant la formation de substances humiques et engendrant un produit stable : le compost. Le compostage est le résultat direct de l'action de populations microbiennes diversifiées évoluant en milieu aérobie (Sharma *et al.*, 1997). Différentes communautés de micro-organismes, constituées majoritairement de bactéries, de champignons et de protozoaires se succèdent au cours du compostage (Mustin, 1987, Tuomela *et al.*, 2000, Hassen *et al.*, 2001).

## I.1.2. Les mécanismes impliqués

Il existe deux types de compostage, en présence et en absence d'oxygène. La nature du processus de décomposition y est directement liée. Lors de carence en oxygène, les microorganismes anaérobies dominent et élaborent des composés intermédiaires tels que du méthane, du sulfure d'hydrogène et quelques autres substances spécifiques des fermentations anaérobies. En l'absence d'oxygène, ces composés ne sont pas métabolisés et s'accumulent. Un grand nombre de ces composés présentent de forts pouvoirs olfactifs et certains d'entre eux peuvent entraîner une phytotoxicité lors de l'épandage des composts comme amendements organiques. De plus, le compostage anaérobie est un processus s'effectuant à basse température; ainsi, les graines d'adventices et les pathogènes ne sont pas affectés et

détruits par l'élévation de chaleur caractérisant un processus aérobie. Enfin, ce processus anaérobie nécessite davantage de temps que le compostage en présence d'oxygène. Ces inconvénients contrebalancent fortement les avantages de ce procédé et notre étude ne portera donc que sur le compostage aérobie, bien que plusieurs travaux aient montré la présence possible de zones anaérobies (He *et al.*, 2000; Beck-Friis *et al.*, 2001) dans un compost dit « aéré ». De telles zones peuvent être expliquées par l'intense activité microbienne consommatrice d'oxygène et génératrice de gaz carbonique, combinée à un manque d'aération du compost.

Finstein & Morris (1975) expliquent que, dans la plupart des écosystèmes, la libération de chaleur d'origine biologique est très diffuse et disparaît trop rapidement pour engendrer une élévation de température significative. Cependant, la décomposition de matières organiques reste un cas à part pouvant produire une intense chaleur. En effet, le processus de compostage peut être très simplement schématisé par la production de chaleur au cours de l'action de micro organismes en présence d'oxygène. La matière organique peut alors subir deux types de processus : une minéralisation complète jusqu'au CO<sub>2</sub> ou une humification et une production de substances humiques (Figure 1).



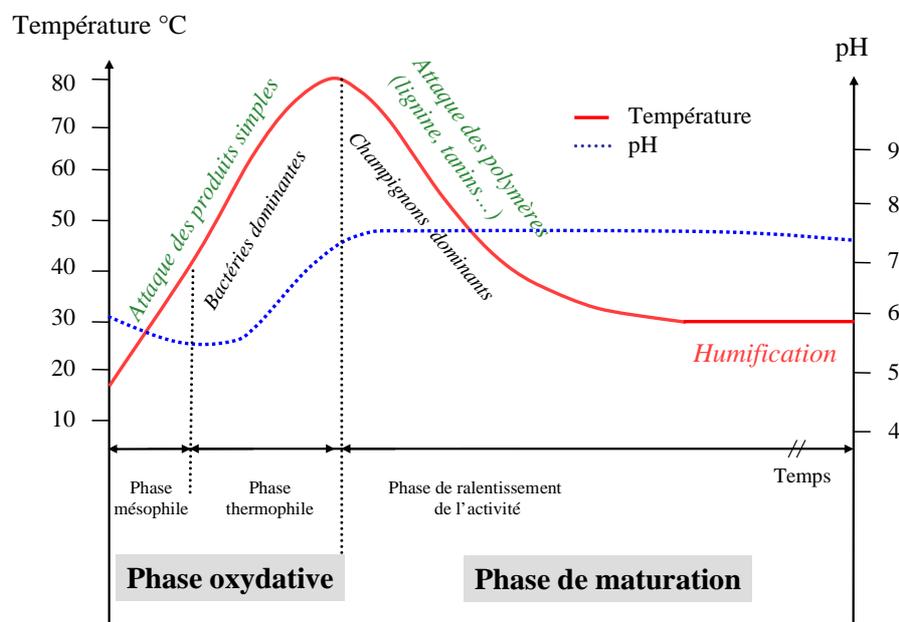
**Figure 1** : Processus théoriques mis en jeu pendant le compostage d'après Itävaara et al. (1995)

Plusieurs phases théoriques se succèdent au cours du compostage (Figure 2). La première est appelée phase mésophile du fait des températures atteintes inférieures à 45°C. Des micro-organismes dont la température de croissance optimale est comprise entre 20 et 45°C se multiplient alors rapidement, notamment grâce à la présence de matière organique facilement biodégradable (sucres simples et acides aminés libres). Leurs métabolismes très

actifs engendrent une production intense de chaleur et élèvent ainsi la température du compost à un point tel que leurs propres activités sont inhibées.

A ce moment, débute la phase thermophile où quelques champignons ainsi que de nombreuses bactéries thermophiles (température de croissance optimale comprise entre 50 et 70°C) poursuivent le processus, en augmentant encore la température du milieu jusqu'à 65 - 70°C voire plus. Durant cette phase très active, une importante part de la matière organique est perdue par minéralisation du carbone organique et dégagement de CO<sub>2</sub>, et un assèchement du compost lié à l'évaporation de l'eau est souvent observé. Cependant, la hausse de température est cruciale pour la qualité du compost, car la chaleur détruit les pathogènes et les graines d'adventices. Ces deux premières phases peuvent être assimilées à une première phase dite de dégradation.

Cette phase dégradative (phase mésophile et thermophile) est suivie par une période de ralentissement de l'activité, pendant laquelle la température diminue graduellement. Des micro-organismes mésophiles colonisent à nouveau le compost. S'en suit alors une phase de maturation constructive où apparaissent lentement des éléments précurseurs de l'humus. La dégradation lente des composés résistants entraîne une coloration brun foncé à noir du compost et rend celui-ci plus fin et homogène (Hsu & Lo, 1999). Sa texture ressemble alors à celle d'un sol. Le compost est alors mature et le processus est achevé.



**Figure 2** : Courbe théorique d'évolution de la température et du pH au cours du compostage d'après Mustin (1987)

### I.1.3. Les micro-organismes du compost

Bien que le compostage soit un « art » très ancien et couramment utilisé, ce procédé est l'une des biotechnologies les plus complexes qu'il soit, en raison des changements d'états physiques et biologiques innombrables durant le processus. Une bonne compréhension de ces changements exige une étude précise des successions de communautés microbiennes comprenant l'ensemble des micro-organismes présents y compris ceux qui sont en très faible proportion. Selon Haruta *et al.* (2005), la microbiologie du compostage doit être étudiée au travers de divers aspects, comme par exemple, la composition et la succession des communautés pendant le processus, les micro-habitats, ainsi que les fonctions des micro-organismes au sein de la communauté.

#### I.1.3.1. Les bactéries

Les bactéries sont toujours présentes et largement dominantes en qualité et quantité au cours du compostage. Elles sont typiquement unicellulaires avec une taille de 0,5 à 3 µm. Par leur petite taille, les bactéries ont un rapport surface/volume très élevé, leur permettant des transferts rapides de substrats solubles à l'intérieur de la cellule, ce qui assure souvent leur prédominance sur des micro-organismes de plus grandes dimensions comme les champignons (Tuomela *et al.*, 2000). Un autre avantage des bactéries est la capacité, pour certaines d'entre elles telles celles appartenant au genre *Bacillus*, de se protéger en produisant des spores très résistantes à la chaleur, aux radiations et aux désinfections chimiques (Haug, 1993). De plus, leur spectre d'activité est très large et sur une grande gamme de pH. Les bactéries isolées dans les différents types de compost constituent une importante diversité de genres et d'activités. Depuis les années 1900, de nombreuses études microbiologiques ont rendu compte des processus de compostage. Elles ont été passées en revue par Finstein et Morris en 1975. Plus récemment, Ryckeboer *et al.* (2003) ou Haruta *et al.* (2005) ont compilé les différentes études pré-existantes et ont établi une liste des espèces isolées pour chacune des phases du compostage en fonction de la température et du pH. Pendant la phase mésophile, les bactéries isolées appartiennent à diverses familles: *Alcaligenaceae*, *Alteromonadaceae*, *Bacillaceae*, *Burkholderiaceae*, *Bradyrhizobiaceae*, *Caryophanaceae*, *Caulobacteraceae*, *Cellulomonadaceae*, *Clostridiaceae*, *Comamonadaceae*, *Corynebacteriaceae*, *Enterobacteriaceae*, *Flavobacteriaceae*, *Flexibacteraceae*, *Hyphomicrobiaceae*,

*Intrasporangiaceae*, *Methylobacteriaceae*, *Microbacteriaceae*, *Micrococcaceae*, *Moraxellaceae*, *Neisseriaceae*, *Nitrosomonadaceae*, *Nocardiaceae*, *Nocardiopsaceae*, *Paenibacillaceae*, *Phyllobacteriaceae*, *Propionibacteriaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Pseudonocardiaceae*, *Rhodobacteraceae*, *Sphingobacteriaceae*, *Staphylococcaceae*, et *Xanthomonadaceae*. Pendant la phase thermophile, plusieurs familles de bactéries thermophiles ont été identifiées : *Micromonosporaceae*, *Streptomycetaceae*, *Thermoactinomycetaceae*, *Thermomonosporaceae* et *Streptosporangiaceae*. Après cette phase de dégradation, et donc pendant la phase de maturation et de ralentissement de l'activité, la diversité taxonomique microbienne augmente encore (Haruta *et al.*, 2005).

Parmi les bactéries, un sous-groupe a une grande importance au sein du compost : les actinomycètes. Ce sont des bactéries formant des filaments multicellulaires et agissant plus tardivement que les autres. Ils apparaissent aussi bien lors de la phase thermophile que pendant la phase de maturation du compostage (Tuomela *et al.*, 2000). Les actinomycètes tolèrent des pH légèrement basiques mais leur croissance est lente. Ils peuvent cependant dégrader la cellulose et la lignine comme certains champignons tout en tolérant des températures et un pH plus élevés que les champignons. Ainsi, les actinomycètes sont des agents essentiels de la lignocellulolyse pendant le phase thermophile, bien que leur capacité de dégrader la cellulose et la lignine ne soit pas aussi étendue que celle des champignons (Tuomela *et al.*, 2000). Les genres *Streptomyces* et *Nocardia* représentent plus de 90 % de leur biomasse selon Mustin (1987).

### ***I.1.3.2. Les champignons***

La température est l'un des plus importants facteurs affectant la croissance fongique devant les sources de carbone et d'azote et le pH. Un niveau modérément élevé de l'azote est nécessaire pour la croissance fongique bien que quelques champignons, dits de la pourriture blanche, se développent à des taux d'azote bas. En effet, un milieu pauvre en azote est souvent un préalable à la dégradation de lignine (Dix & Webster, 1995). Cependant, ces auteurs affirment qu'une carence en azote est un facteur limitant pour la dégradation de la cellulose. La plupart des champignons préfère un environnement acide mais tolère un large éventail de pH, exceptés les *Basidiomycotina* qui se développent moins bien au-dessus de pH 7,5. Les espèces de *Coprinus* sont les seules *Basidiomycètes* préférant un environnement alcalin (Dix & Webster, 1995). La majorité des champignons est mésophile et se développe entre 5 et

37°C, avec une température optimale de 25-30°C (Dix & Webster, 1995). Cependant, le processus de compostage, engendrant des élévations de température importantes, octroie une grande importance au petit groupe de champignons thermophiles dans la biodégradation de la matière organique.

Les capacités ligninocellulolytiques de tous les champignons thermophiles ne sont pas déterminées. Cependant, la plupart d'entre eux sont connus pour dégrader la lignine, la cellulose ou les hémicelluloses (Tuomela *et al.*, 2000). Les plus importantes capacités de dégradation de la lignine sont rencontrées chez *Basidiomycotina* (Mouchacca, 1997). Ceux-ci sont mésophiles mais quelques-uns d'entre eux se développent à des températures plus élevées. Par exemple, *Phanerochaete chrysosporium* qui est un champignon de la pourriture blanche, ayant fait l'objet de nombreuses études pour ses capacités de production d'enzymes actives dans la dégradation de la cellulose et de la lignine, a des températures optimales de 36 à 40°C avec des températures maximales de 46 à 49°C (Mouchacca, 1997).

#### ***1.1.3.3. Les algues, les protozoaires et les animaux pluricellulaires***

A côté de ces trois principaux types de micro-organismes, on retrouve également dans le compost, des algues, des protozoaires et des animaux pluricellulaires. Les algues se développent en surface en présence de lumière. Le rôle des algues est mal connu, mais leur importance dans l'évolution de la matière organique en milieu aérobie est sans doute faible (Mustin, 1987). Les protozoaires bactériophages sont connus pour une action importante sur le nombre de bactéries dans les sols. Des variations cycliques des populations prédateurs / proies ont été observées (Mustin, 1987). Les animaux pluricellulaires présents dans les composts appartiennent à différentes catégories. Par ordre de taille sont représentés les microarthropodes (collembolés, acariens et myriapodes) et les nématodes (vers ronds) entre 0,2 et 4 mm, les larves d'insectes (autres que les collembolés) et les annélides (vers de terre) entre 4 et 80 mm et enfin les animaux supérieurs à 80 mm comme les mollusques (limaces, escargots...) et les crustacés notamment représentés par les cloportes. Beaucoup de ces animaux pluricellulaires se nourrissent de débris végétaux et peuvent avoir un rôle important dans l'homogénéisation des composts.

## I.1.4. Objectifs du compostage

La mise en décharge étant interdite pour de nombreux bio-déchets (sauf les déchets ultimes), leur incinération coûteuse et peu populaire, le compostage devient de plus en plus une solution pratique, simple. Elle présente de nombreux avantages, le principal étant la valorisation des déchets pour la production d'un amendement organique stable. En effet, le champ d'application du compostage s'est élargi avec l'évolution des techniques de compostage et la problématique de gestion collective des déchets ménagers. Cette filière concerne tous types de déchets organiques tels que les déchets verts, les bio-déchets ménagers, les boues de stations d'épuration collectives ou industrielles, les déchets agroalimentaires, les effluents d'élevage...

### *I.1.4.1. Effets physico-chimiques du compost sur les sols*

De nombreuses études ont montré le rôle bénéfique du compost sur les qualités physiques et chimiques des sols amendés. Par exemple, une amélioration des propriétés physiques, une augmentation de la conductivité hydrique et une diminution de la densité des sols ont été observées par Wong *et al.* (1999). De même, l'incorporation de compost au sol s'avère efficace pour lutter contre la dégradation de la surface du sol (Bresson *et al.*, 2001). Pagliai *et al.* (2004) ont montré que l'ajout de compost dans un sol améliore sa porosité et sa structure. Les amendements en matière organique stable augmentent le pouvoir tampon et la capacité d'échange des sols, deux paramètres qui conditionnent la nutrition minérale des plantes (Mustin, 1987). De plus, l'incorporation de composts permet de réduire l'acidité du sol, et de diminuer ainsi les risques d'exportation des métaux vers la plante (Bolan *et al.*, 2003).

### *I.1.4.2. Valorisation agronomique des composts par apport d'éléments fertilisants*

Un constat général est la chute du taux de matière organique et donc l'appauvrissement des sols cultivés par excès d'utilisation d'engrais minéraux solubles (Bresson *et al.*, 2001). Le premier intérêt des amendements organiques est donc une diminution de la part de ces engrais lixiviables et leur remplacement par des déchets organiques valorisés.

Les applications de compost dans les sols améliorent durablement et efficacement la fertilité du sol selon les travaux de Guittonny-Larchevêque (2004). De même, cet auteur a montré que les amendements de composts favorisent le processus de reforestation en améliorant la nutrition et la croissance des plantes, et surtout en augmentant leur potentiel de survie en période de sécheresse.

La valorisation agronomique des composts est aussi souvent comprise comme étant l'apport d'éléments fertilisants. Les substances organiques sont caractérisées par trois éléments principaux: Carbone, Hydrogène et Oxygène représentant en masse plus de 90 % du résidu sec des végétaux. Cependant, de nombreux autres éléments font partie des éléments nutritifs majeurs pour les plantes. Ceux-ci sont classés en deux groupes: les macro-éléments tels que l'azote, le phosphore, le potassium, le soufre, le calcium et le magnésium présents à des proportions de quelques pour mille à quelques pour cent de la matière sèche et les éléments nutritifs secondaires ou oligo-éléments (proportion inférieure à 0,1 % de la matière sèche). Nous nous intéresserons plus particulièrement à trois d'entre eux: l'azote, le phosphore et le potassium. Cependant, les rôles principaux des autres éléments nutritifs sont résumés dans le Tableau 1.

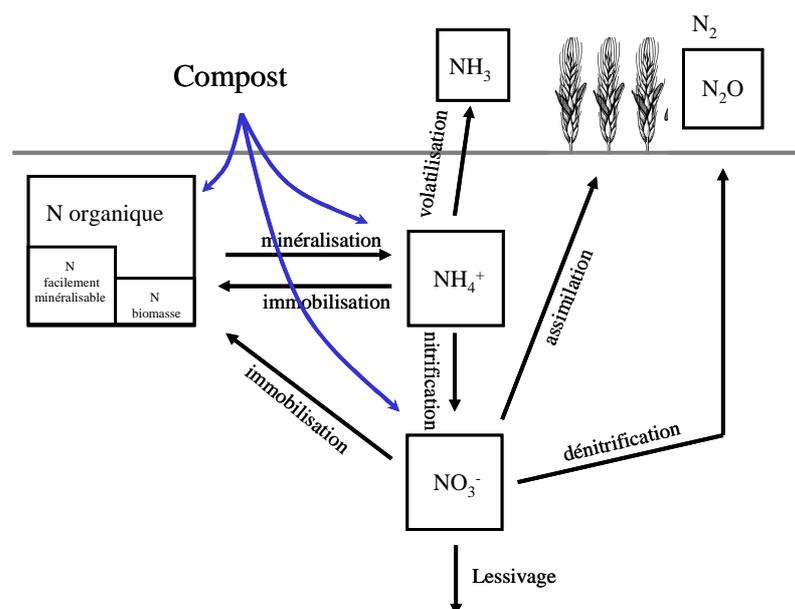
Eléments	Proportions	Rôles
<b><u>Macro-éléments</u></b>		
Calcium	1 à 2 % MS	Forme facilement des chélats, diminue la perméabilité cellulaire, contrôle l'ouverture de canaux ioniques transmembranaires, active certaines enzymes, rôle de messenger secondaire de certaines hormones
Magnésium	0,1 à 0,7 % MS	Constituant de la chlorophylle, active de nombreuses enzymes
Soufre	0,1 à 0,6 % MS	Constituant de composés organiques soufrés. Carence en S est très sévère et provoque une chlorose (disparition de la chlorophylle)
Sodium	Taux variables	Rôle sur la pression osmotique (algues) mais pas toujours indispensable (certaines plantes en C4 n'en exigent pas: maïs, sorgho, canne à sucre...)
Chlore	Taux variables	Rôle dans la turgescence cellulaire (avec K <sup>+</sup> ), nécessaire à la photosynthèse
Silicium	Taux variables	Inutile pour la plupart des plantes sauf pour les Gramminées et quelques autres végétaux
<b><u>Oligo éléments</u></b>		
Fer	< 0,1 %	Catalyseur biochimique: constituant des groupements prosthétiques (hèmes), constituant des protéines Fer-soufre
Cuivre	< 0,1 %	Constituant de la cytochrome oxydase (fin de chaîne respiratoire), des phénol oxydases, de certains transporteurs d'électrons (photosynthèse) et de la superoxyde dismutase (destruction de l'ion superoxyde : très toxique)
Molybdène	< 0,1 %	Impliqué dans la réduction des nitrates et de l'azote atmosphérique
Zinc	< 0,1 %	Cofacteur de plusieurs enzymes (phosphatase alcaline, carboxypeptidase...)
Bore	< 0,1 %	Contribue à l'intégrité de la paroi en stabilisant les chélats calciques, rôle dans les transports
Manganèse	< 0,1 %	Rôle dans diverses oxydo-réductions

**Tableau 1** : Rôles des éléments minéraux

## Azote (N)

L'azote est l'élément fondamental de la production végétale, le « pivot de la fertilisation ». Sa disponibilité détermine le rendement. Il entre dans la composition de très nombreux éléments essentiels à la vie cellulaire : acides aminés, acides nucléiques... Le cycle de l'azote consiste en la transformation des formes de l'azote assurés par les microorganismes du sol. L'azote minéral représente généralement moins de 5 % de l'azote total du sol et se trouve sous forme de nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) et d'ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) selon Robert (1996). L'azote organique est minéralisé en  $\text{NH}_4^+$  par ammonification, puis nitrifié en  $\text{NO}_3^-$ . L'ammonification est réalisée par des micro-organismes variés alors que la nitrification n'est opérée que par certains micro-organismes plus spécifiques, tels que des bactéries des genres *Nitrosomonas* et *Nitrobacter*. L'azote minéral ( $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NH}_4^+$ ) est susceptible d'être ensuite assimilé par les plantes, ou immobilisé dans la biomasse microbienne du sol. Le cycle simplifié de l'azote est résumé dans la Figure 3.

La quasi-totalité de l'azote du sol est sous forme organique (Mustin, 1987). Cependant, la matière sèche des composts de déchets municipaux pouvant contenir jusqu'à 0.15% d'azote minéral (ADEME, 2000), leur incorporation au sol peut entraîner une augmentation immédiate de l'azote minéral du sol (Amlinger *et al.*, 2003). Par ailleurs, Fortuna *et al.* (2003) ont mis en évidence une augmentation du potentiel de minéralisation de l'azote du sol après application de compost et l'ont expliqué par l'ajout d'azote fixé aux substances humiques formées pendant le compostage.



**Figure 3** : Schéma du cycle de l'azote lié à un apport de compost d'après Francou (2003)

### *Phosphore (P)*

Les plantes prélèvent le phosphore sous forme d'ions  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$  et  $\text{HPO}_4^{2-}$ . Le phosphore intervient dans la constitution de certains éléments structuraux essentiels à la vie cellulaire (acides nucléiques, phospholipides), dans les échanges d'énergie (phosphorylation d'un composé organique) et dans de très nombreuses réactions métaboliques (réactivité de substrats ou changement de conformation réactionnelle de coenzyme). La disponibilité du phosphore apporté par le compost dépend de la nature du sol. En effet, le phosphore peut être immobilisé par adsorption sur des oxydes de fer et d'aluminium ou précipité lorsqu'une grande quantité est apportée. Un équilibre s'établit entre le phosphore minéralisé et le phosphore immobilisé, entraînant des disponibilités du phosphore très variables selon le type de sol (nombre de sites d'adsorption, pH). Tester *et al.* (1979) ont montré que l'apport de phosphore extractible par un même compost est très différent suivant le sol amendé.

### *Potassium (K)*

Le potassium est absorbé par les plantes sous la forme ionique ( $\text{K}^+$ ), très mobile, dissout dans le liquide intracellulaire, notamment la vacuole, où il s'accumule à des concentrations jusqu'à trois cents fois supérieures à celles du milieu environnant. Son abondance et sa mobilité en font le cation le plus important pour la création de la pression osmotique et donc de la turgescence vacuolaire. Les flux de potassium jouent un rôle important dans le contrôle des mouvements de cellules ou d'organes (ex. ouverture des stomates). De plus, il accompagne les anions dans leur accumulation et leur migration, notamment les ions  $\text{NO}_3^-$  jusqu'à leur réduction (racine ou feuille). Les ions  $\text{K}^+$  s'échangent, aussi, facilement contre les ions  $\text{H}^+$  émis par les pompes à protons, leur permettant de fonctionner en continu. En plus de l'influence de son abondance, s'ajoute un rôle d'activation de nombreuses enzymes et un rôle déterminant dans la synthèse des protéines et des polysaccharides (accumulation d'acides aminés et d'oses lors de carence en K). L'apport de potassium par le compost est généralement faible. Chen *et al.* (1996) ont mesuré une concentration variant de 4 g / kg de MS pour les composts de boues, ce qui peut être limitant dans le cas d'un faible apport aux sols, jusqu'à 17 g / kg de MS pour les composts de fumier. Le compost de fumier est alors un bon fertilisant potassique et risque même de présenter un excès pour les plantes et d'engendrer un déséquilibre  $\text{K}^+/\text{Mg}^+$ . Mais à l'inverse de l'azote et du phosphore, sa disponibilité est très grande, puisque pratiquement tout le potassium est disponible (Francou, 2003).

#### ***1.1.4.3. Amélioration des aspects biologiques des sols amendés***

Plusieurs travaux ont montré que les activités enzymatiques sont stimulées par l'ajout d'amendements organiques dans les sols (Serra-Wittling *et al.*, 1996; Crecchio *et al.*, 2004). Pascual *et al.* (1998) ont montré qu'un amendement organique suffisamment important dans un sol semi-aride augmente significativement les activités enzymatiques pendant au moins 360 jours. En revanche, l'ajout d'amendements organiques immatures produit l'effet inverse *i.e.* une diminution initiale de ces activités.

L'addition de compost mature dans un sol améliore la qualité du sol et favorise le développement végétal, mais réduit aussi le nombre de maladies occasionnées par les pathogènes issus du sols (Erhart *et al.*, 1999; Cotxarrera *et al.*, 2002).

#### ***1.1.4.4. Effets remédiant des amendements organiques***

L'addition d'amendements organiques permet une remédiation de sols pollués, en luttant notamment contre la toxicité saline (Tejada *et al.*, 2006). De même, Guittonny-Larchevêque (2004) a montré que l'épandage de compost est capable de diminuer, à court terme, le possible stress toxique qu'exercent le nickel (Ni) et le zinc (Cr) sur les végétaux dans un sol pollué. En effet, même si l'apport de compost constitue une source exogène d'éléments traces métalliques (ETM), il constitue un milieu nutritif pour les racines des végétaux (humus) plus dilué en Ni et Cr que le milieu naturel au préalable contaminé en ces deux éléments.

En ce qui concerne les polluants organiques, le compostage permet aussi une remédiation de sols contaminés en augmentant la photo-dégradation de pesticides comme l'Irgarol (Amine-Khodja *et al.*, 2006), en minéralisant des explosifs, tels que le TNT présent dans le sol d'usines de fabrication ou de démantèlement (Breitung *et al.*, 1996, Bruns-Nagel *et al.*, 1998), ou en dépolluant un sol contaminé par du pétrole : raffinerie, désert Koweïtien (Al-Daher *et al.*, 1998). Semple *et al.* (2001) ont expliqué que les résultats de l'utilisation de composts pour le traitement de sols pollués dépendent de plusieurs facteurs, notamment la biodisponibilité et la biodégradabilité du polluant organique. Chaque pollution est donc à étudier individuellement.

#### ***1.1.4.5. Effet de serre***

Dans le cadre de la lutte contre l'effet de serre additionnel, l'incorporation dans les sols de produits contenant des matières organiques stabilisées semble être une solution raisonnable. En effet, le compost, comparé à des matières non traitées (boues de station d'épuration) augmente la stabilisation du carbone. En 2004, environ 1,73 million de tonnes de compost ont été produites en France (ADEME, 2006). Cependant, le CO<sub>2</sub> n'est pas le seul gaz à effet de serre à prendre en considération dans le cadre de l'utilisation de compost. Le méthane (CH<sub>4</sub>) et le protoxyde d'azote ou oxyde nitreux (N<sub>2</sub>O) sont des molécules beaucoup plus efficaces que le CO<sub>2</sub> pour augmenter l'effet de serre. Le N<sub>2</sub>O libéré par la nitrification ou la dénitrification au sein du compost a un effet positif sur le réchauffement global de la même façon que le CH<sub>4</sub> produit par l'élevage de bétails ou le compostage de déchets organiques. En effet, le méthane est produit lors de la dégradation des lipides solubles, des hydrates de carbone et des acides organiques en conditions anaérobies (Husted, 1993). Ces deux gaz sont susceptibles d'être émis au cours du compostage. Même en cas de procédé avec aération forcée, l'apparition de micro-sites anaérobies permet la production et le dégagement de méthane. Le procédé utilisé est directement responsable de la quantité de gaz produite, notamment pour les andains où des zones anaérobies peuvent se former (He *et al.*, 2000; Fukumoto *et al.*, 2003, Hobson *et al.*, 2005). Il est cependant difficile d'établir un constat précis de l'effet du compostage sur l'émission de gaz à effet de serre, car les travaux sont récents et peu nombreux.

#### ***1.1.4.6. Le compostage et son effet hygiénisant***

Dans le cadre de la valorisation agricole de compost de boues ou contenant des boues résiduelles, certaines utilisations nécessitent une hygiénisation préalable. On retrouve dans les boues une très grande variété d'organismes (bactéries, virus, parasites). La quasi-totalité de ces organismes se trouve initialement dans les eaux usées admises et traitées en usine. Leur nature et leur forte affinité pour les matières particulaires contribuent à leur concentration dans les boues. Si la charge microbienne est relativement élevée, la majeure partie des micro-organismes est non pathogène. Cependant, il est nécessaire de s'assurer de l'innocuité des composts contenant des boues. Les données bibliographiques indiquent que le compostage (dégradation aérobie thermophile) est un procédé considéré comme très efficace en terme

d'hygiénisation pour de multiples raisons : la température atteinte, la durée du traitement, le développement d'une flore saprophyte rentrant en compétition avec les populations pathogènes, et la stabilisation durable de la matière organique.

Le compostage à partir d'un mélange contenant des boues de station d'épuration est un procédé qui permet de détruire les agents pathogènes, notamment par la biais de l'élévation de température (Deportes *et al.*, 1998, Ros *et al.*, 2006). Meekings *et al.* (1996) ont montré que *Ascaris lumbricoïdes*, un parasite de l'homme et des animaux, qui se développe dans les intestins et se transmet par les excréments humains infectés contenant des œufs, est détruit pendant le processus de compostage. De même, Pereiraneto *et al.* (1986) ont affirmé qu'une élévation de la température du compost à 58 – 65 °C pendant 10 à 15 jours a permis de réduire de manière significative le nombre de micro-organismes pathogènes. Parmi ces derniers, les streptocoques fécaux sont des plus résistants au compostage. Les bactéries *Escherichia coli* et *Salmonella* sont, elles, plus sensibles aux élévations de température. Certaines bactéries sont, de surcroît, sensibles aux antibiotiques émis lors du compostage (El-Abagy & El-Zanfaly, 1984). Il faut aussi noter que le processus de maturation est essentiel pour favoriser la compétition entre les pathogènes et la biomasse totale du compost. En effet, les sources de carbone facilement dégradables dans un compost mature sont réduites, permettant une compétition intense avec les autres micro-organismes du compost. Sidhu *et al.* (2001) ont suggéré que la micro-flore bactérienne « indigène » jouerait un rôle majeur dans la répression de croissance des *Salmonella*.

Cependant, il est à noter qu'il subsiste un risque de croissance *de novo* de pathogènes si les sources d'énergie sont disponibles. Sidhu *et al.* (2001) ont montré que le compost présente des risques de croissance *de novo* potentielle des micro-organismes pathogènes et que la détermination de la maturité n'est pas un facteur suffisant de garantie de l'absence de risque sanitaire. Un risque de développement de pathogènes dans les parties périphériques des andains existe, notamment, dans le cas de compostage en piles statiques selon Pereiraneto *et al.* (1986).

## I.1.5. Quels déchets composter ?

### *I.1.5.1. Les boues de station d'épuration*

Les boues sont définies par le Comité Européen de Normalisation (CEN) comme « un mélange d'eau et de matières solides, séparé par des procédés naturels ou artificiels des divers types d'eau qui le contiennent ». Les boues de station d'épuration sont issues du traitement des eaux usées domestiques ou industrielles. En effet, l'eau consommée ou utilisée par l'homme à l'échelle domestique ou industrielle génère inévitablement des déchets. Les eaux usées sont recueillies par les égouts et dirigées vers les stations d'épuration afin d'être purifiées avant leur réintroduction dans le milieu naturel. Leur traitement dans les stations permet de séparer une eau épurée d'un résidu secondaire, les boues, bien pourvu en matière organique, azote, phosphore ainsi qu'en oligo-éléments. Le traitement des eaux usées permet d'éliminer, d'une part, la partie la plus facilement dégradable de la matière organique et, d'autre part, les différents composés dont les eaux sont chargées (débris alimentaires, graisses, fibres textiles et cellulosiques, savons, lessives et détergents) avant leur réintroduction dans le cycle de l'eau.

### *I.1.5.2. Les déchets verts*

Les déchets verts sont des déchets organiques issus de l'entretien des espaces verts, des jardins privés, des serres, des terrains de sports... On désigne par déchets verts les feuilles mortes, les tontes de gazon, les tailles de haies, d'arbustes, les résidus d'élagage, les déchets d'entretien de massifs, les déchets de jardin des particuliers collectés séparément ou par le biais des déchetteries.

### *I.1.5.3. Les déchets ménagers*

Les déchets ménagers sont des déchets issus de l'activité domestique des ménages et pris en compte par les collectes usuelles ou séparatives. Ces déchets peuvent être séparés en deux sous catégories :

- La fraction résiduelle des déchets ménagers obtenue après séparation des papiers, cartons, verres et emballages. Elle est également désignée par le terme « ordures ménagères

grises » du fait de la couleur de la poubelle utilisée par les collectivités qui pratiquent ce type de collecte sélective.

- La fraction fermentescible (putrescible) des ordures ménagères : déchets organiques biodégradables, ou biodéchets (déchets de cuisine, fleurs, etc.), récupérés lors de collectes sélectives visant à les isoler des autres composés non putrescibles. Les déchets verts des jardins des particuliers sont souvent collectés avec cette fraction. Les déchets de marchés constituent également cette catégorie.

### I.1.6. Les différents procédés de compostage

En France, on estime à près de 700 les installations de compostage en 2004, tous déchets confondus. Il existe une grande variété d'usines de compostage allant des plates-formes les plus simples, constituées uniquement d'une surface à l'air libre pour placer les andains et de quelques engins (broyeurs, tracto-pelles), aux plates-formes les plus sophistiquées constituées d'espaces abrités, d'appareils de contrôle continu de la température, de la teneur en oxygène, de systèmes de ventilation, etc... La description, ci-dessous, des méthodes de fabrication du compost, est celle de la FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) par Misra & Roy (2005).

#### *I.1.6.1. Compostage en andains*

##### *- Andains retournés*

Le compostage en andains consiste à placer un mélange de matières premières dans de longs tas étroits appelés andains (Figure 4) remués ou tournés de façon régulière. Ces andains sont aérés essentiellement par un mouvement passif ou naturel de l'air (convection et diffusion gazeuse). Le taux d'échange avec l'air dépend de la porosité de l'andain. Ainsi, la taille de l'andain qui peut être effectivement aéré de cette manière est déterminée par sa porosité. Un andain composé de feuilles peut être bien plus grand qu'un andain humide contenant du fumier. Quand l'andain est trop grand, des zones anaérobies peuvent alors apparaître à proximité du centre et des odeurs sont libérées quand l'andain est retourné. Par contre, les petits andains perdent rapidement de la chaleur et risquent de ne pas réussir à atteindre une température suffisamment élevée pour permettre l'évaporation de l'eau et

l'élimination des pathogènes et des graines d'adventices. Pour les compostages à petites et moyennes échelles, le retournement peut être effectué à l'aide d'un chargeur frontal ou d'une pelle portée par un tracteur ou un tracto-pelle. Le chargeur soulève les matériaux de l'andain et les déverse à nouveau, mélangeant ainsi les matières et dépose le mélange sous forme d'un andain plus aéré. Le chargeur peut mélanger les matières se trouvant à la base de l'andain avec celles du haut, formant ainsi un nouvel andain à proximité de l'ancien. Il est très important de suivre un programme de retournement. La fréquence de retournement est fonction du taux de décomposition, du taux d'humidité et de la porosité des matériaux, ainsi que de la durée désirée de compostage. Comme le taux de décomposition est plus important au début du processus, la fréquence de retournement diminue au fur et à mesure que les andains mûrissent.



**Figure 4** : Exemple d'andains retournés

- Andains aérés passivement

Avec la méthode des andains aérés passivement, de l'air est fourni aux composts par des tuyaux perforés, enfoncés dans l'andain, qui élimine la nécessité du retournement. Les extrémités des tuyaux sont ouvertes et l'air circule ainsi dans les tuyaux et à travers l'andain en raison de l'effet de tirage créé par les gaz chauds qui s'élèvent hors de l'andain. Comme les matières premières ne sont pas retournées quand les andains sont achevés, celles-ci doivent être parfaitement mélangées préalablement à leur mise en andain. Il est crucial d'éviter le compactage des matières lors de la préparation des andains.

## - Tas statique aéré

La méthode du tas statique aéré utilise le système d'aération par tuyau mais est plus avancée, car elle utilise un ventilateur pour fournir de l'air au compost (Figure 5). Le ventilateur offre un contrôle direct du processus et permet de travailler avec des tas plus importants, sans retournement après le début du compostage. L'air est aspiré ou soufflé à travers le tas. Le tas n'étant pas retourné par la suite, la sélection et le mélange initial des matières premières sont cruciaux afin d'éviter une mauvaise répartition de l'air et un compostage irrégulier. Le mélange a également besoin d'une bonne structure afin de conserver sa porosité tout au long de la période de compostage. Pour le compostage statique en tas, l'air peut être fourni de deux façons: un système d'aspiration avec l'air aspiré à travers le tas ou un système de soufflage grâce au ventilateur injectant de l'air dans le tas.

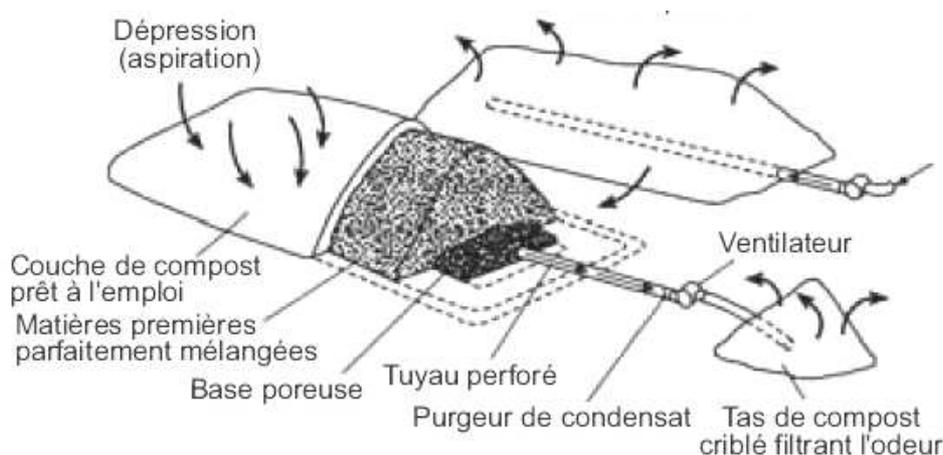


Figure 5 : Schéma du tas statique aéré d'après FAO (2005)

### *1.1.6.2. Compostage en récipients clos*

Le compostage en récipient fait référence à un ensemble de méthodes qui confinent les matières à composter dans un bâtiment, un container ou un récipient. Ces méthodes sont basées sur l'aération forcée et des techniques de retournement mécanique qui visent à accélérer le processus de compostage. De nombreuses méthodes combinent les techniques des andains et des tas aérés dans le but de surmonter les faiblesses et exploiter les avantages de chaque méthode.

## - Compostage en casier

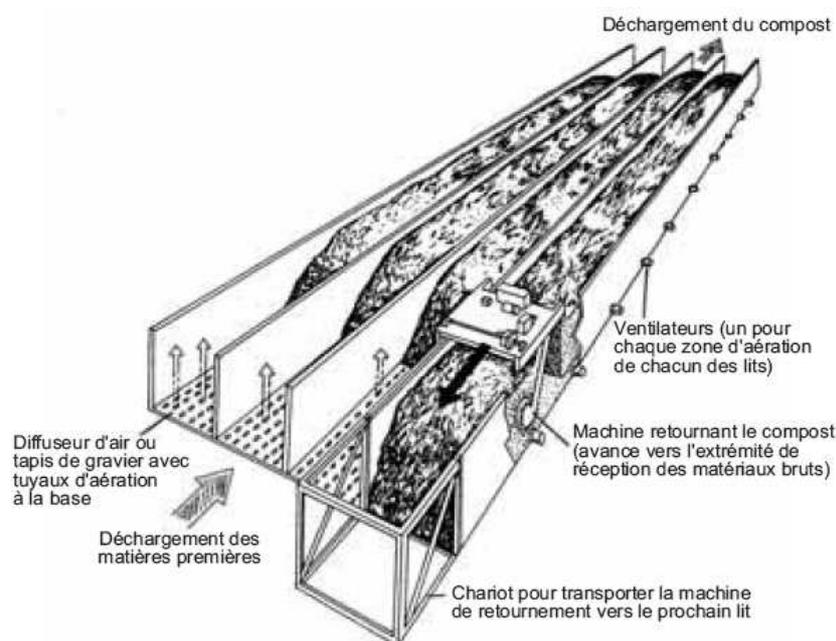
Le compostage en casier est peut être la méthode de compostage en récipient la plus simple. Les matières sont contenues par des murs avec le plus souvent un toit (Figure 6). Les bâtiments ou les silos permettent de stocker des quantités plus importantes de matériaux et d'utiliser l'espace au sol de manière plus efficace que ne le font les tas indépendants. Les casiers permettent aussi d'éliminer les problèmes climatiques, de maîtriser les odeurs et d'offrir un meilleur contrôle de la température. Les méthodes de compostage en casier fonctionnent de la même façon que la méthode du tas statique aéré. Elles comprennent des procédés d'aération forcée à la base du casier et un petit nombre, voire aucun retournement des matériaux. Un mélange occasionnel des matières dans les casiers peut faire redémarrer le processus. Les matières à composter peuvent être déplacées d'un casier à l'autre. La plupart des principes et des conseils suggérés pour le tas aéré s'applique également au compostage en casier.



**Figure 6** : Compostage en casier

## - Lits rectangulaires remués

Le système de lit remué est une combinaison des méthodes d'aération contrôlée et de retournement périodique. Le compostage a lieu entre des murs qui forment de longs et étroits couloirs appelés lits (Figure 7). Un rail ou une saignée en haut de chaque mur supporte et guide la machine retournant le compost. Un chargeur place les matières premières à l'extrémité frontale du lit. Au fur et à mesure que la machine avance sur les rails, le compost est retourné et reposé à l'arrière.



**Figure 7** : Système de compostage en lits rectangulaires remués d'après FAO (2005)

## - Silos

Une autre technique de compostage fait intervenir un récipient clos ressemblant à un silo à déchargement par le bas. Le système d'aération à la base du silo souffle de l'air à travers les matières à composter. L'air évacué peut être recueilli au sommet du silo de façon à en traiter les odeurs. Cependant, l'empilement présente des problèmes au niveau de la compaction, du contrôle de la température et de la circulation de l'air. Les matières n'étant que très peu mélangées dans le silo, celles-ci doivent l'être préalablement à leur chargement dans le silo.

## - Tambours rotatifs

Ce système utilise un tambour horizontal rotatif pour mélanger, aérer et déplacer les matières à travers le système. De l'air est fourni à partir de l'extrémité de déchargement et est intégré aux matières alors que celles-ci sont remuées.

### *1.1.6.3. Vermicompostage*

Le terme vermicompostage (ou lombricompostage) se réfère à l'utilisation de vers pour composter les résidus organiques (Figure 8). Les vers peuvent consommer pratiquement tous les types de matière organique et peuvent absorber l'équivalent de leur propre poids par jour. Les turricules (excréments) des vers sont riches en nitrates, et en formes disponibles de P, K, Ca et Mg. Le passage à travers les vers de terre favorise la croissance des bactéries et notamment des actinomycètes dont la teneur dans les déjections de vers de terre est six fois supérieure à celle du sol d'origine (FAO, 2005).



**Figure 8** : Utilisation de vers en lombricompostage

### I.1.7. Cadre réglementaire des matières fertilisantes

Le texte fondamental fixant le cadre réglementaire français pour les matières fertilisantes et supports de culture est le Code rural (articles L.255-1 à L 255-11) qui s'est substitué à la loi n° 79-595 du 13 juillet 1979 relative à l'organisation du contrôle des matières fertilisantes et supports de culture. La loi de 1979 a été élaborée de façon à mettre en pratique la Directive européenne 76/116 relative au rapprochement des législations des pays membres concernant les engrais (uniquement minéraux). Les articles L 255-1 à L 255-11 du Code rural donnent des matières fertilisantes et des supports de culture les définitions suivantes :

- Matière fertilisante: produit dont l'emploi est destiné à assurer ou à améliorer la nutrition des végétaux ainsi que les propriétés physiques, chimiques et biologiques des sols.

- Support de culture : produit destiné à servir de milieu de culture à certains végétaux.

La plupart des produits organiques, dès lors qu'ils possèdent une valeur fertilisante sont donc couverts par le champ d'application de cette loi.

En ce qui concerne les amendements organiques contenant des matières fertilisantes issues du traitement des eaux, les articles L255-1 à L255-11 du code rural, relatifs à la mise sur le marché des matières fertilisantes et supports de culture, constituent la base réglementaire, mais il est imposé une homologation des produits ou à défaut :

- le respect de normes d'application obligatoire. La réglementation encadrant la mise sur le marché des matières fertilisantes a évolué par le fait que l'arrêté du 18 mars 2004 a rendu d'application obligatoire la norme NFU 44-095 (AFNOR, 2002) relative aux composts contenant des matières d'intérêt agronomique, issues de traitement de l'eau. Cette norme permet aux boues compostées, si elles répondent aux exigences en terme d'efficacité, d'innocuité et de traçabilité, d'être mises sur le marché sans passer par un plan d'épandage.

- le respect de la loi sur l'eau (03/01/92) ou de la loi sur les installations classées (19/07/76). Dans ce cas, l'épandage est régi par des arrêtés avec obligation de plans d'épandage. C'est le cas pour les boues de stations d'épurations.

Leur utilisation en agriculture biologique est possible dans le cadre de leur reconnaissance par l'organisme de contrôle. Les composts d'effluents d'élevage, les composts de déchets verts et les composts de biodéchets peuvent être utilisés en agriculture biologique.

## I.2. Aspects biochimiques du compostage

Au sein du compost, on distingue généralement les substances non-humiques et les substances humiques. Les substances non-humiques sont des composés aux caractéristiques chimiques reconnaissables dont la majorité provient des résidus de constituants organiques végétaux, animaux ou microbiens, molécules retrouvées dans les boues et les déchets verts. Ce sont les constituants de ces résidus organiques qui forment la matière organique du compost. Ainsi, on peut distinguer des glucides, principalement la cellulose et les hémicelluloses, ainsi que la lignine, constituants les plus abondants des plantes et donc des déchets verts, mais aussi, les lipides, les protéines, les tanins, la cutine ou la subérine, etc... Les substances humiques sont des composés organiques stables, impliqués dans de nombreux processus au sein des composts et des sols par exemple désagrégation du sol, nutrition des plantes, stabilisation du pH, mobilité et toxicité d'élément trace métallique, disponibilité biologique etc... Cependant, leur structure moléculaire est encore mal connue et leur définition peu précise. Ces principaux constituants seront brièvement présentés.

### I.2.1. Substances non humiques : structure et dégradation

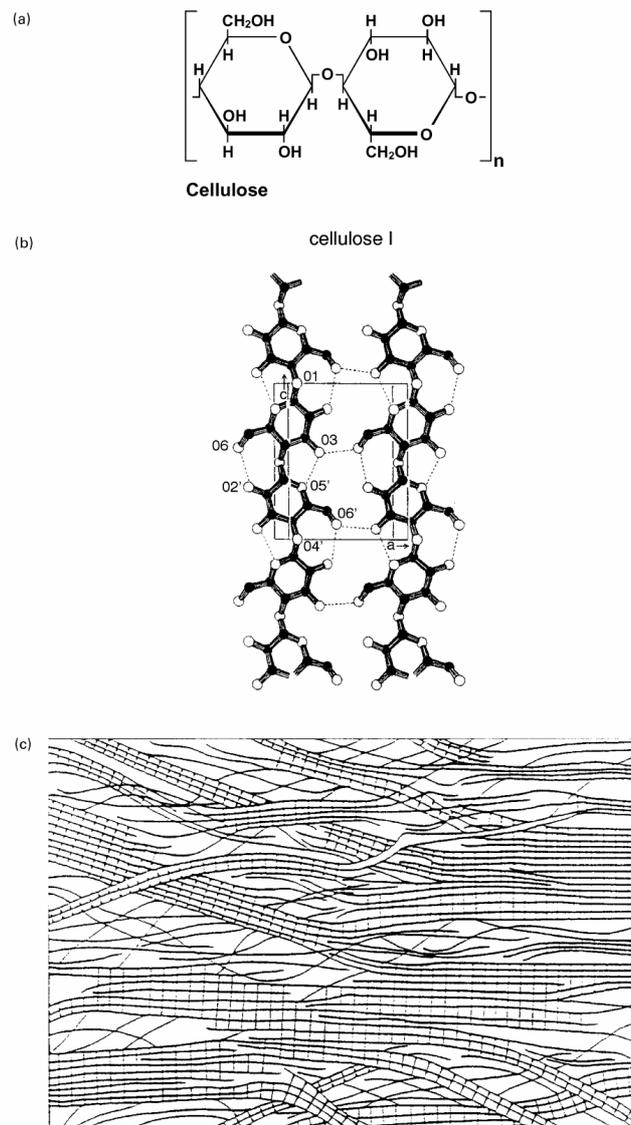
Une variété importante de composés organiques constitue, dans des proportions variables, les matières initiales présentes dans les composts. Leurs structures, leurs rôles et leurs métabolismes, au sein du compost, sont exposés ci-dessous.

#### *I.2.1.1. Les glucides*

Les oses, monosaccharides ou « sucres simples » sont très présents dans les végétaux, et donc dans les biodéchets (Francou, 2003). Ces monosaccharides, facilement métabolisables, sont dégradés en début de compostage (Lynch, 1992).

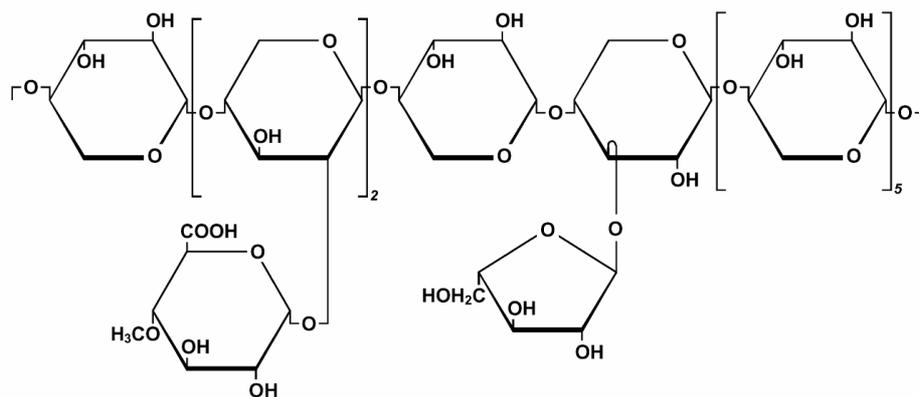
Les polysaccharides constituent la forme principale des glucides dans la matière organique en décomposition (Stevenson, 1994). Ce sont des homopolymères, résultant de la condensation d'un grand nombre de monosaccharides. Les polysaccharides d'origine végétale les plus abondants sont la cellulose et les hémicelluloses.

La cellulose est le composé organique le plus abondant dans la biosphère, comportant presque la moitié de la biomasse synthétisée par la fixation photosynthétique de CO<sub>2</sub> (Deng & Tabatabai, 1994). Cet homopolymère linéaire est constitué de sous unités de D-glucose (> 10000) liées entre elles par des ponts β-1,4 (Figure 9a) appelés liaisons glycosidiques. L'arrangement régulier des groupes hydroxyles, le long des chaînes de cellulose, conduit à la formation de liaisons hydrogène (Figures 9b) et, par conséquent, à une structure fibrillaire (Figure 9c). Cette structure existe sous forme amorphe, ou sous forme cristalline, plus résistante à la dégradation enzymatique et microbienne (Stevenson, 1994).



**Figure 9** : Structure de la cellulose : (a) Deux molécules de glucose liées par une liaison β-1,4 glycosidique; (b) Liaisons hydrogène entre deux chaînes de cellulose; (c) Structure fibrillaire de la cellulose (Extrait de Kögel-Knabner, 2002)

Les hémicelluloses sont des constituants végétaux qui accompagnent la cellulose dans la constitution du bois. Mais contrairement à la cellulose, les hémicelluloses sont des hétéropolysaccharides. En effet, elles sont constituées de divers monosaccharides incluant principalement des hexoses tels que le glucose, le mannose et le galactose ainsi que des pentoses tels que le xylose et l'arabinose (Lynch, 1992). Les molécules d'hémicelluloses sont plus ou moins ramifiées et présentent un degré de polymérisation plus faible que celui de la cellulose (Figure 10).

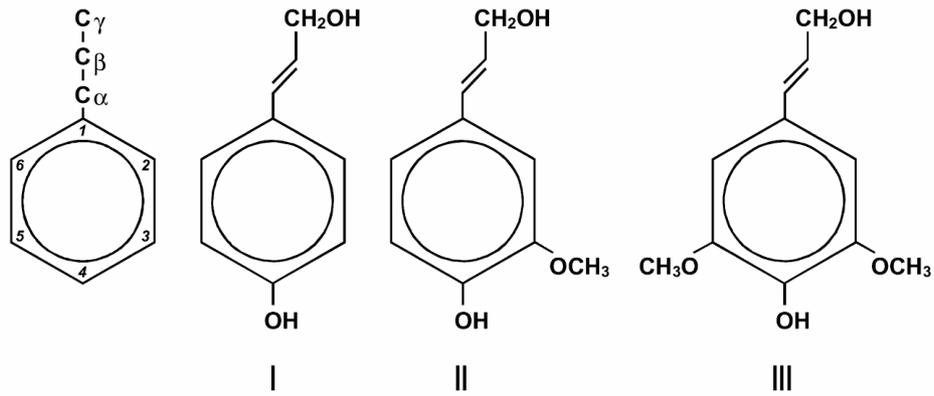


**Figure 10** : Exemple d'une unité d'hémicellulose : Arabino-4-O-méthyl-glucurono-xylane (Extrait de Kögel-Knabner, 2002)

### 1.2.1.2. La lignine et le complexe lignocellulosique

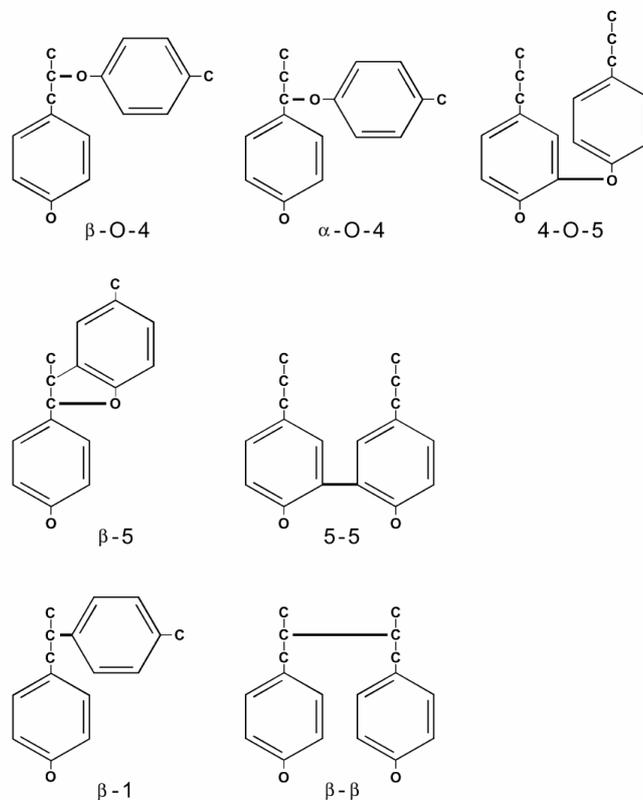
La ligninocellulose est un complexe formé de polymères de lignine, de cellulose et d'hémicelluloses. Les fibres de cellulose peuvent être étroitement liées aux hémicelluloses et à la lignine par des liaisons hydrogène ou des liaisons covalentes, ester ou éther (Kogel-Knabner, 2002).

La lignine est une macromolécule complexe composée d'unités de type phénylpropanoïde. Ce polymère aromatique participe à la rigidité de la paroi cellulaire et rend les plantes plus résistantes à l'attaque des organismes pathogènes. Après les polysaccharides; la lignine est le plus abondant biopolymère dans la nature (Kogel-Knabner, 2002). Les trois unités primaires de la lignine sont l'alcool *p*-coumarylique, l'alcool coniférylique et l'alcool sinapylique (Figure 11). Le pourcentage de ces unités varie selon les végétaux.



**Figure 11** : Structure des précurseurs de la lignine. (I) : Alcool p-coumarylique ; (II) : Alcool coniférylique ; (III) : Alcool sinapylique ; d'après Kögel-Knabner (2002)

La lignine résulte de la polymérisation de sous-unités liées entre elles par trois liaisons majeures : les liaisons arylglycérol- $\beta$ -aryléther qui peuvent représenter jusqu'à 50% des liaisons et en moindre proportions les liaisons carbone - carbone et les liaisons phénylcoumaranes (Figure 12).



**Figure 12** : Structure des liaisons principales dans la lignine (Extrait de Kögel-Knabner, 2002)

La structure de la lignine n'est pas encore totalement résolue. Jusqu'à présent, la lignine a été considérée uniquement comme une macromolécule tridimensionnelle (Figure 13). Cependant, Banoub & Delmas (2003) lui attribuent une structure linéaire (Figure 14).

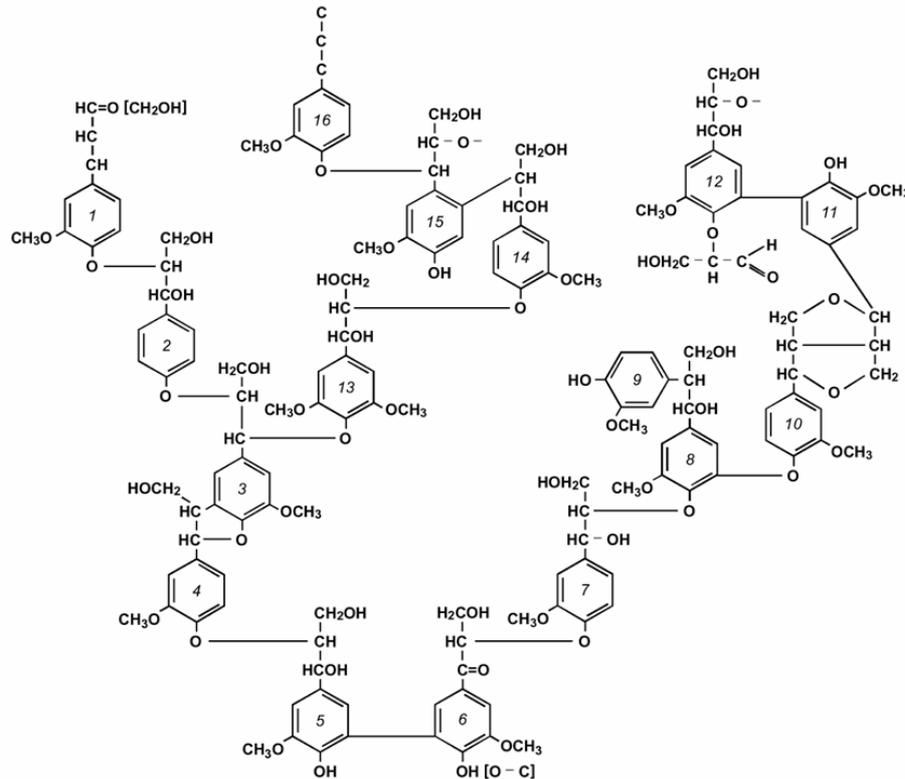


Figure 13 : Modèle de lignine tridimensionnelle (Extrait de Kögel-Knabner, 2002)

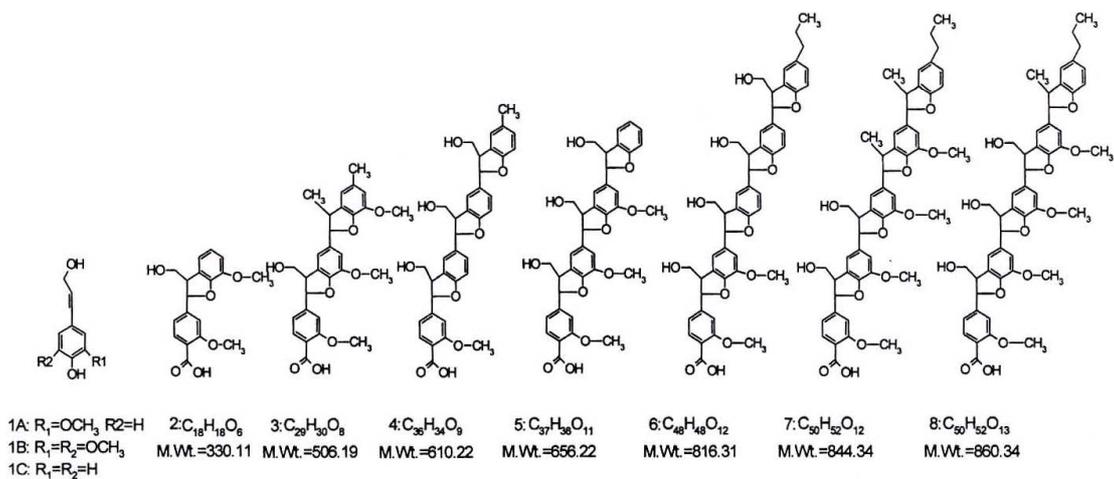


Figure 14 : Modèle de lignine linéaire (Extrait de Banoub et Delmas, 2003)

### ***1.2.1.3. Les protéines***

Les protéines peuvent avoir des rôles très divers (structure, transporteur, hormone, enzyme...) qui les a rendu ubiquistes dans le monde vivant et c'est pourquoi celles-ci sont retrouvées dans les biodéchets. Les protéines jouent un rôle majeur dans la théorie lignino-protéique de formation des substances humiques (Stevenson, 1994) où les composés aminés réagissent avec la lignine modifiée, mais aussi dans le cas des réactions de Maillard dans lesquelles des glucides et des composés aminés se condensent (Maillard, 1913).

### ***1.2.1.4. Les lipides***

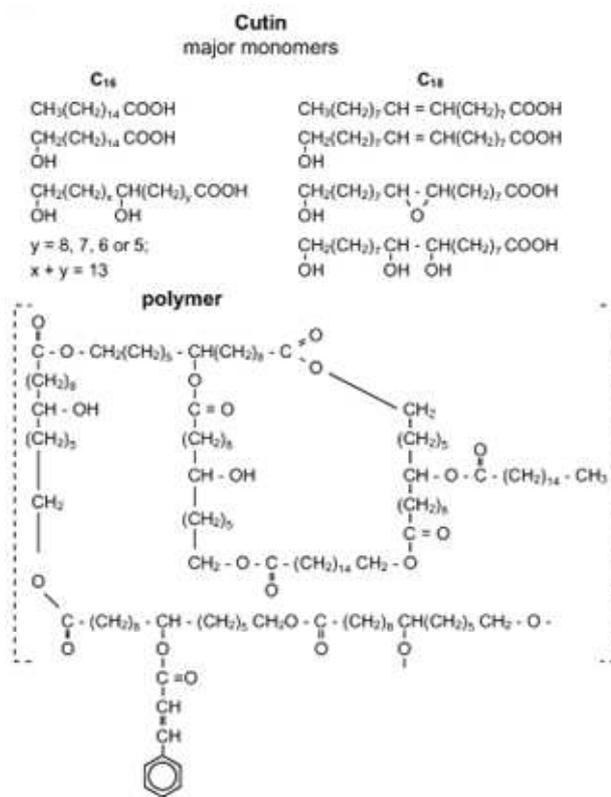
Comme les protéines, les lipides ont un rôle très important dans la nature et se retrouvent ainsi dans les biodéchets et notamment dans les boues de station d'épuration (Dignac *et al.*, 1998). La dégradation de ces lipides est très variable, la plupart sont rapidement dégradés pendant le compostage mais les plus complexes sont particulièrement récalcitrants (Francou, 2003).

### ***1.2.1.5. Polyesters lipidiques***

Les plantes synthétisent deux types de polymères insolubles dérivés d'acides gras : la cutine et la subérine (appelé polyesters lipidiques). La cutine compose la matrice macromoléculaire dans laquelle des cires et des lipides de faibles poids moléculaires sont imbriqués pour former la cuticule. Celle-ci établit ainsi une barrière imperméable entre la plante et son environnement, la protégeant de la dessiccation due à l'atmosphère (Kogel-Knabner, 2002). A l'inverse, la subérine est une composante pariétale cellulaire située entre la paroi cellulaire et la membrane plasmique des cellules de liège qui composent aussi bien les tissus de surfaces que les parties souterraines. La subérine agit en tant que barrière pour contrôler le mouvement de l'eau et des solutés, et contribue à la solidité de la paroi cellulaire (Molina *et al.*, 2006).

La cutine est un biopolymère insoluble d'acides carboxyliques, principalement aliphatiques en C<sub>16</sub> et C<sub>18</sub>, composé d'hydroxy et d'époxy acides (Figure 15). Le composé majoritaire en C<sub>16</sub> est un dihydroxy acide et ceux en C<sub>18</sub> sont des 1'ω-hydroxy acide, le ω-hydroxy-9,10-époxy acide, le 9,10,18-trihydroxy acide et leurs analogues insaturés (Quenea *et*

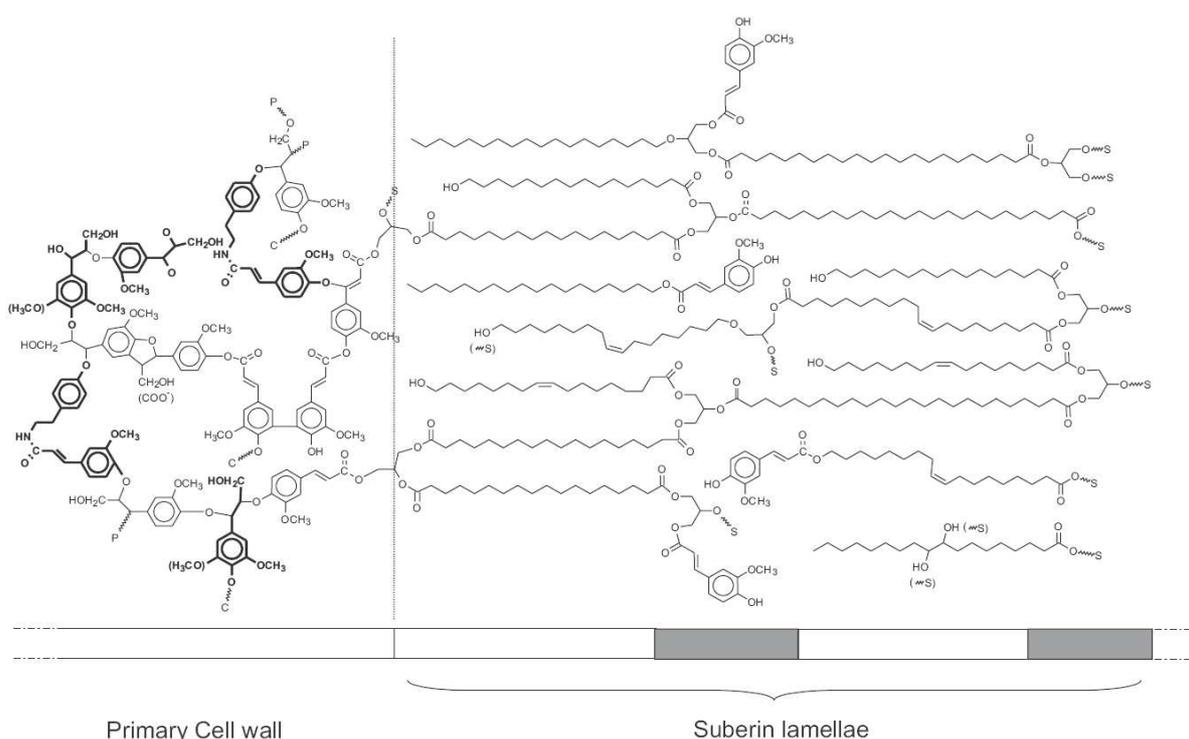
*al.*, 2004). Franke *et al.* (2005) expliquent que les  $\omega$ -hydroxy acides hydroxylés ou époxydés en positions secondaires, approximativement au milieu de la chaîne, sont les composés majeurs déterminés après dépolymérisation par hydrolyse, mais que la structure et la composition chimique de la fraction non hydrolysée est encore peu connue. Cependant, Graca *et al.* (2002) ont identifié des glycérols au sein de la cutine qui sembleraient jouer un rôle majeur dans sa structure polyesters.



**Figure 15** : Monomères et structure de la cutine (Extrait de Kolattukudy, 1980)

La subérine a une structure plus complexe que la cutine. Elle est constituée de domaines aliphatiques et aromatiques liés entre eux. Le domaine aromatique contient des acides phénoliques tels que des acides *p*-coumarique et férulique (Bernards, 2002), vraisemblablement impliqués dans la liaison du domaine aliphatique aux polysaccharides de la paroi cellulaire végétale (Kogel-Knabner, 2002). Le domaine aliphatique de la subérine est un polymère de polyesters, constitué principalement de  $\omega$ -hydroxy-acides (C<sub>16</sub> à C<sub>28</sub>) et de  $\alpha,\omega$ -di-acides (C<sub>16</sub> à C<sub>26</sub>). Molina *et al.* (2006) rapportent que récemment, le glycérol a été identifié comme composant majeur dans la subérine de la pomme de terre, du coton et du

chêne. Ainsi, Bernards (2002) rappelle qu'historiquement, le domaine aromatique a été assimilé à la lignine, mais que plus récemment celui-ci a été décrit comme contenant une quantité significative de précurseurs sans affinité avec la lignine (principalement des acides hydrocinnamiques et leurs dérivés) liés par covalence les uns aux autres de manière analogue aux monolignols de la lignine. De même, Bernards (2002) explique que le modèle conceptuel, selon lequel le domaine aliphatique des tissus subérifiés est représenté comme un réseau aléatoire d'acides gras modifiés et d'alcools polyestérifiés, a été remplacé par un modèle comportant un réseau tridimensionnel lié par le glycérol. Ainsi, cet auteur a établi un nouveau modèle pour la subérine (Figure 16) selon lequel un domaine polyphénolique basé sur l'acide hydrocinnamique - monolignol, enrobé dans la paroi cellulaire primaire, est lié par covalence à un domaine polyaliphatique basé sur le glycérol et localisé entre la paroi cellulaire primaire et le plasmalemme (membrane plasmique végétale).

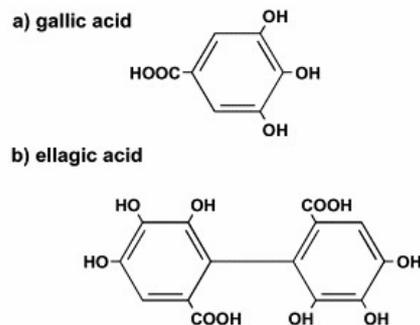


**Figure 16** : Modèle de la subérine de pomme de terre. Les connections indiquées sont respectivement C : polysaccharide ; P : groupe phénolique et S : subérine (Extrait de Bernards, 2002)

### 1.2.1.6. Les tanins

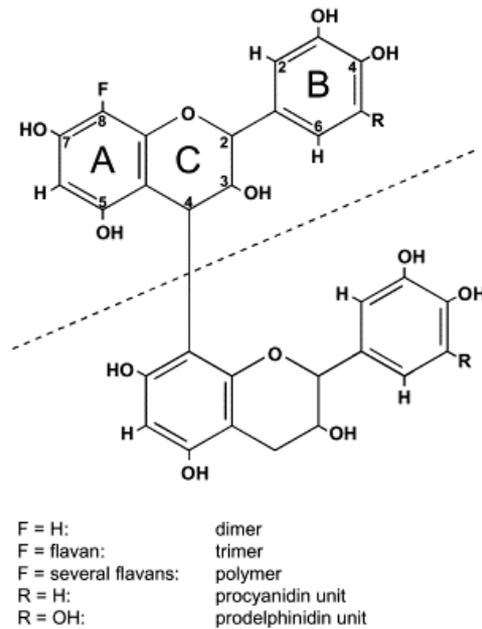
Les tanins constituent un mécanisme de défense des plantes contre les pathogènes, les herbivores et des conditions environnementales hostiles et peuvent donc se retrouver dans les déchets verts. Les tanins ont des structures polyphénoliques et regroupent des composés de structure et de masse molaire variables. Deux groupes de tanins peuvent être distingués : les tanins hydrolysables et les tanins non-hydrolysables ou condensés (proanthocyanidine et phlorotanins).

Les tanins hydrolysables sont composés de deux types d'unités de base, à savoir un glucide (la plupart du temps le D-glucose) et des acides phénoliques (Figure 17). Les tanins hydrolysables sont un groupe hétérogène de macromolécules, partagées entre les gallotanins pour lesquels le glucide est estérifié par l'acide gallique et les ellagitanins où le glucide est estérifié par l'acide ellagique (Kogel-Knabner, 2002). La dégradation des tanins est effectuée par l'hydrolyse de ces liaisons esters par des enzymes spécialisées : les tannases (EC, 3.1.1.20).



**Figure 17** : Unités de base de tanins hydrolysables : (a) acide gallique (b) acide ellagique (Extrait de Kogel-Knabner, 2002)

Les tanins condensés sont des polymères de polyhydroxy-flavan-3-ol, liés la plupart du temps par des liaisons entre C-4 et C-8 et sporadiquement entre C-4 et C-6 (Figure 18). Les tanins condensés ne dépassent couramment pas les 10 unités, même si des polymères de plus de 40 unités ont déjà été observés (Kogel-Knabner, 2002). Cette classe de composés est caractérisée par une immense hétérogénéité due à la présence de divers groupes fonctionnels. Les proanthocyanidines possèdent deux groupes OH (sur le cycle B de la Figure 18), alors que les prodelphinidines en possèdent trois.



**Figure 18 :** Structure des tanins condensés (Extrait de Kogel-Knaber, 2002)

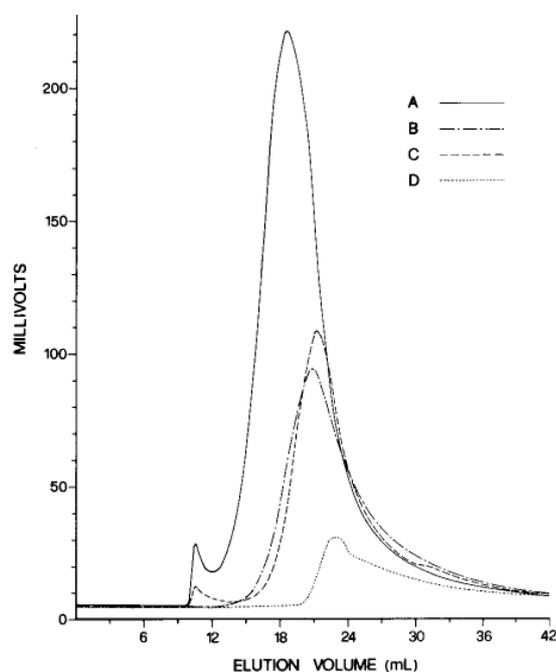
### I.2.2. Substances humiques

Les substances humiques sont le résultat des processus d'humification. Le compostage est classiquement associé au processus naturel d'humification observé pour la matière organique du sol. Pour cette raison, l'étude des phénomènes d'humification ou de stabilisation de la matière organique lors du compostage s'appuie sur la théorie générale de formation des substances humiques (Francou, 2003). L'humification est une transformation de la matière organique pendant laquelle de nouvelles molécules sont élaborées par voie microbienne et physico-chimique : les substances humiques. Généralement, on distingue dans ces substances : les acides humiques (AH), fulviques (AF) et l'humine. Ces composés sont extraits par différence de solubilité en milieu basique et acide (Calace *et al.*, 2007). Seuls les acides humiques et fulviques sont solubles en milieu basique, l'humine peut ainsi être isolée facilement. En milieu acide, les acides humiques précipitent, contrairement aux acides fulviques. Cette définition est strictement opérationnelle et n'a pas de réalité biologique (Quenea *et al.*, 2004). En effet, même si les termes génériques d'acides humiques, fulviques et d'humines couvrent la majeure fraction des substances humiques, la frontière qui les sépare n'est chimiquement pas clairement identifiée (Piccolo, 2002).

La structure des ces trois fractions a fait l'objet de nombreuses recherches mais n'est toujours pas résolue. Plusieurs études de leurs propriétés chimiques (analyses élémentaires C, H, N et composition en groupements acides) ont montré une relative constance pour les acides humiques et fulviques provenant de différents sols (Kononova, 1961). Ainsi, bien que basées sur aucune compréhension moléculaire, quelques simples corrélations ont encouragé la communauté scientifique à considérer les substances humiques comme une entité ayant ses propres propriétés chimiques et pouvant être identifiées dans différents environnements, plutôt que comme une complexe composition de composées non spécifiques (Piccolo, 2002). A partir de différentes observations (composition élémentaire, propriétés optiques, propriétés électrophorétiques et poids moléculaire), Kononova (1961) a introduit alors l'idée que les substances humiques correspondent à un système de polymères.

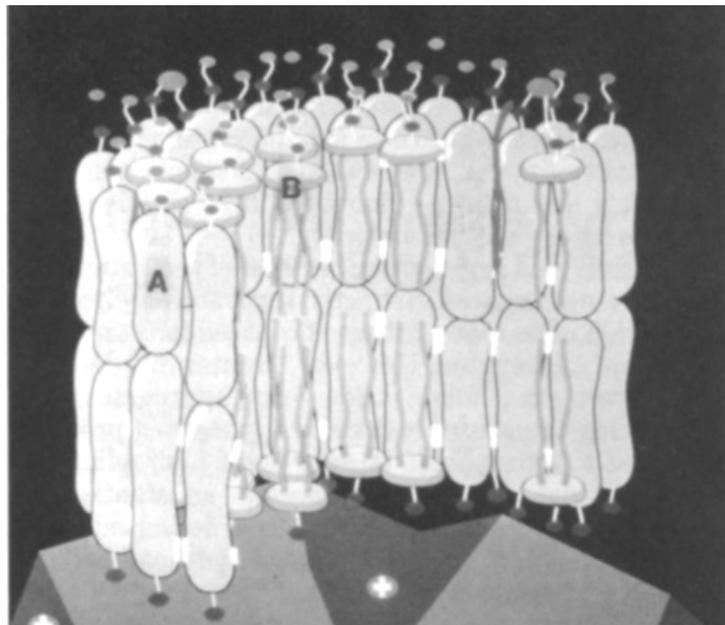
Historiquement, plusieurs raisons ont amené la communauté scientifique à penser que les substances humiques avaient une structure polymérique, en dépit de l'absence de preuve évidente. La première de ces raisons réside dans l'acceptation de la description polymérique des macromolécules dans les cellules vivantes par Staudinger (1935). Il paraissait commode de supposer que les substances humiques issues de ces substances étaient elles-mêmes des polymères. Cependant, actuellement, la décomposition et la dégradation des biopolymères dans les sols sont des processus bien acceptés (Piccolo, 2002). La seconde raison réside dans les caractéristiques réfractaires des substances humiques (250 à 3000 ans) dans les sols pouvant être expliquées par une structure polymérique stable. De plus, les hypothèses classiques de formation des substances humiques impliquant la condensation entre acides aminés et composés issus de la dégradation de la lignine, tendent à envisager que les substances humiques auraient une structure polymérique similaire à celle de la lignine (Waksman, 1936). De même, Piccolo (2002) explique que d'autres hypothèses de formation des substances humiques, comme la condensation de polyphénols ou les réactions de Maillard, ont pu justifier le paradigme polymérique des substances humiques par le fait que ces réactions de polymérisation se produisaient en laboratoire. Un autre aspect contribuant à la vision polymérique des substances humiques est l'ensemble de leurs propriétés colloïdales pouvant être assimilées à celles des polyélectrolytes (polymères de très haut poids moléculaire) en milieu aqueux (Van Dijk, 1971). La plupart des propriétés des polyélectrolytes, telles que le processus de floculation et dispersion, ont aussi été observées pour les substances humiques (Piccolo, 2002). Ainsi, le principe de haut poids moléculaire a pu être facilement transféré aux substances humiques.

Il subsiste, cependant, de nombreux débats sur le poids moléculaire des substances humiques variant suivant les méthodes d'analyses utilisées (Piccolo, 2002). De même, il a été proposé de nombreuses théories sur la forme de ces substances: forme globulaire, configuration linéaire flexible, polyélectrolyte sphérique, forme ellipsoïdale ou repliement aléatoire de longues chaînes. Ghosh & Schnitzer (1980) ont réconcilié les différents concepts en mesurant la pression de surface et la viscosité de substances humiques à différents pH et à différentes concentrations en sels. Leur comportement (non chargé à bas pH et polyélectrolytes pour les hauts pH) a permis, sur la base de la théorie polymérique, de montrer que la configuration macromoléculaire des substances humiques n'est pas unique, mais varie suivant le pH, la force ionique et le milieu dans lesquels ces substances ont été dissoutes. Ils ont proposé que les substances humiques soient représentées comme des colloïdes sphériques à forte concentration, bas pH et haute force ionique, et comme des polymères linéaires flexibles à concentration et force ionique basses et pH haut. Par exemple, Conte & Piccolo (1999) ont montré que des acides fulviques analysés par HPSEC (chromatographie d'exclusion stérique haute pression) après dissolution dans des phases mobiles de différentes compositions mais de même force ionique, présentent différents profils conformationnels, *i.e.* des différences de taille (Figure 19).



**Figure 19** : Acides humiques par HPSEC dans quatre phases mobiles: A (Na NO<sub>3</sub>, 0,05 M, pH 7), B (A + méthanol : 4,6.10<sup>-7</sup> M, pH 6,97), C (A + acide chlorhydrique: 2.10<sup>-6</sup> M, pH 5,54), D (A + acide acétique: 4,6.10<sup>-7</sup> M, pH 5,59), d'après Conte & Piccolo (1999)

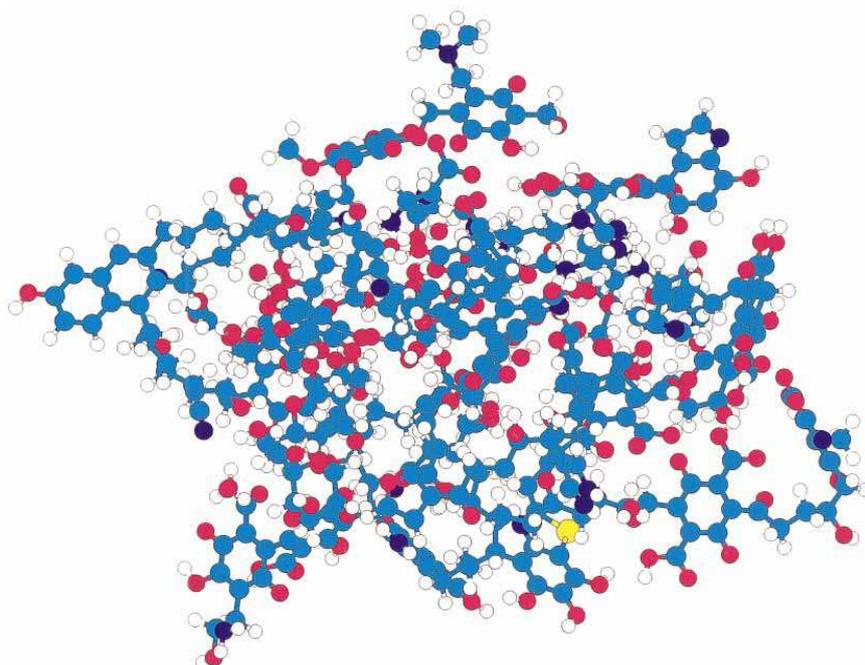
Bien que ce concept de réversibilité soit le plus largement adopté pour décrire les substances humiques, ce modèle n'explique pas l'ensemble des comportements des substances humiques. Ainsi, Wershaw (1986, 1993) a proposé un modèle dans lequel les substances humiques correspondent à un agrégat de nombreux composés amphiphiles issus de la dégradation de polymères végétaux relativement inaltérés possédant des fonctions acides. Dans ce modèle, les substances humiques sont liées entre elles par des liaisons hydrophobes et des liaisons hydrogène, la partie hydrophobe étant à l'intérieur et la partie hydrophile à l'extérieur (Figure 20).



**Figure 20** : Structure des substances humiques selon Wershaw (1989), A : molécule amphiphile non lipidique, B : molécule amphiphile lipidique

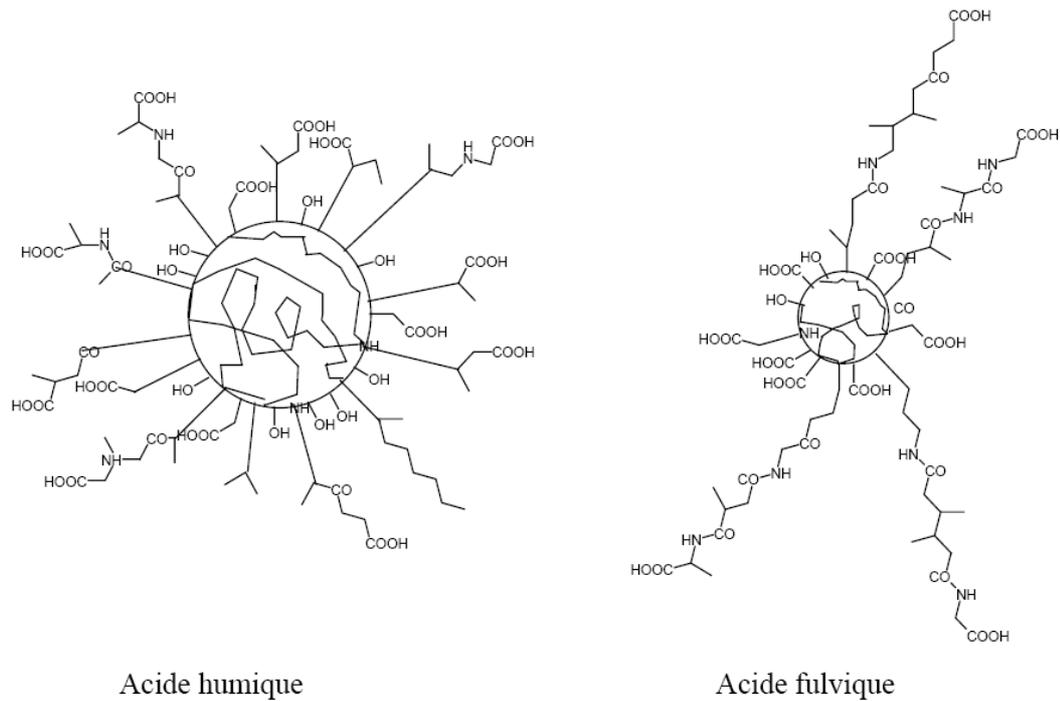
En résumé, il est actuellement généralement admis que les substances humiques ont des structures analogues et sont formées de noyaux aromatiques oxydés, essentiellement des acides carboxyliques et des acides phénoliques, liés par des chaînes aliphatiques et des groupements acides et alcools. Le degré de polymérisation varie au sein des composés humiques, mais Piccolo (2002) rapporte que les nombreuses tentatives de mesure du poids moléculaire des substances humiques ont abouti à des résultats présentant de très grandes différences. Il est tout de même accepté que le poids moléculaire est plus élevé dans l'humine que dans les acides humiques (10000 et 100000 Da) et les acides fulviques (1000 à 30000 Da). Il est aussi couramment admis que les acides fulviques possèdent davantage de groupements carboxyliques et phénoliques (Schulten & Schnitzer, 1997).

Parmi les modèles proposés, celui de Schulten & Leinweber (2000) est généralement préféré. Ces auteurs proposent une structure en trois dimensions des acides humiques, basée sur un réseau formé de noyaux aromatiques (phénols, méthoxyphénols, furanes, pyrroles et pyridine) et de chaînes aliphatiques (alcanes, alcènes, acides, esters) comportant ainsi de nombreuses fonctions acides, alcools et esters (Figure 21). Dans ce modèle, les acides humiques possèdent des « vides » pouvant piéger ou lier d'autres composants organiques tels que des glucides, des protéines, des lipides ou des éléments inorganiques.



**Figure 21** : Modèle d'acides humiques d'après Schulten & Leinweber (2000), les éléments colorés sont : H (blanc), C (cyan), O (rouge), N (bleu) et S (jaune)

Cependant, une autre théorie a été émise par Wershaw (1986, 1993). Les substances humiques seraient constituées d'unités de petites tailles formant des agrégats de grandes tailles en solution aqueuse, maintenus ensemble par des liaisons hydrophobes et hydrogène et présentant des propriétés similaires à celles des macromolécules. Piccolo (1993) a ainsi estimé que la structure des substances humiques n'est pas polymérique mais supramoléculaire, et correspond à l'assemblage de petites molécules par des liaisons faibles (Van der Waals et  $\pi$ - $\pi$ ) en conformation de haut poids moléculaire. L'observation microscopique des substances humiques semble confirmer cette hypothèse. La représentation d'Andreux & Munier-Lamy (1994) permet de comparer la structure des acides humiques et fulviques. Elle propose une structure globale des substances humiques avec un noyau central aromatique sur lequel sont fixées des chaînes latérales aliphatiques ramifiées (Figure 22).



**Figure 22** : Modèle de structure des composés humiques (Andreux & Munier-Lamy, 1994)

### I.2.3. Evolution de la matière organique

#### I.2.3.1. Dégradations particulières

##### - Dégradation enzymatique des glucides

Le métabolisme des glucides existe sous forme de plusieurs voies. Les glucides sont hydrolysés ou isomérisés en glucose (ou fructose), puis dégradés en pyruvate par la glycolyse, la voie des pentoses phosphates ou, pour les bactéries, la voie d'Entner-Doudoroff. Le pyruvate, est, suivant les conditions, fermenté en lactate ou éthanol. En aérobiose, il est transformé en acétylCoA et oxaloacétate. Enfin, ces derniers rentrent dans le cycle de Krebs qui libère du dioxyde de carbone et de l'eau.

Le métabolisme des polysaccharides est particulièrement important dans le compostage comprenant des déchets verts. La cellulose est hydrolysée par un ensemble d'enzymes spécialisés : les cellulases. Ces enzymes hydrolysent les polymères de cellulose en de petits oligosaccharides et en glucose, par l'intermédiaire de trois types majeurs d'enzymes. Les endo-1,4- $\beta$ -glucanases (EC 3.2.1.91) ou carboxyméthyl-cellulases attaquent aléatoirement le polymère de cellulose par endo-action. Les exo- $\beta$ -1,4-glucanases (EC 3.2.1.91) ou

cellobiohydrolases agissent en tant qu'exo-enzymes et opèrent à l'extrémité non-réductrice de la chaîne de cellulose. Les  $\beta$ -glucosidases (EC 3.2.1.21) ou cellobiases, hydrolysent les unités cellobiose (dimère de glucose) et les oligosaccharides en glucose. Ces enzymes peuvent être libres, en particulier chez les micro-organismes aérobies, ou groupées dans une même enzyme à plusieurs composants complexes, le cellulosome, chez les bactéries cellulolytiques anaérobies (Bayer *et al.*, 1998). Les mécanismes de dégradation enzymatique des hémicelluloses sont similaires à ceux impliqués dans l'hydrolyse de la cellulose avec notamment, l'intervention des xylanases et des mannanases (Sinsabaugh *et al.*, 1991). Les produits de dégradation sont variés du fait de l'hétérogénéité même des hémicelluloses.

#### - Dégradation enzymatique de la lignine

La lignine est un polymère récalcitrant à la dégradation. Les micro-organismes principalement responsables de la biodégradation du complexe ligninocellulose sont les champignons aérobies filamenteux parmi lesquels la classe des *Basidiomycètes* est le groupe le plus actif (Kirk & Farrell, 1987). En effet, seul un groupe limité de champignons de la pourriture blanche est capable de la minéraliser totalement. Les autres champignons (pourriture brune et molle) induisent des modifications, mais ont une action de dégradation limitée. Les champignons de la pourriture blanche (*Basidiomycètes* et *Ascomycètes*) sont les agents les plus abondants de la dégradation de la lignine. Ces champignons dégradent la lignine plus rapidement que n'importe quel autre organisme et sont responsables de la majorité de la décomposition de la lignine dans la nature (Tuomela *et al.*, 2000). Cependant, leur substrat de croissance n'est pas seulement la lignine, mais aussi la cellulose et les hémicelluloses (Kirk & Farrell, 1987; Blanchette, 1995).

Les champignons de la pourriture brune constituent un groupe relativement restreint de *Basidiomycètes* dégradant intensément la cellulose et les hémicelluloses, mais ne dégradant pas la lignine totalement. Ces champignons modifient la lignine principalement par déméthylations bien que des hydroxylations aromatiques limitées et des clivages de cycles se produisent également (Kirk & Farrell, 1987). Les champignons de la pourriture molle (*Ascomycètes* et *Deutéromycètes*) sont des agents de dégradation de la ligninocellulose plus lents et moins agressifs que des champignons de la pourriture blanche et brune, et sont probablement les moins importants quantitativement. Certaines bactéries, appartenant notamment au groupe des *Actinomycètes*, peuvent aussi avoir un pouvoir limité de

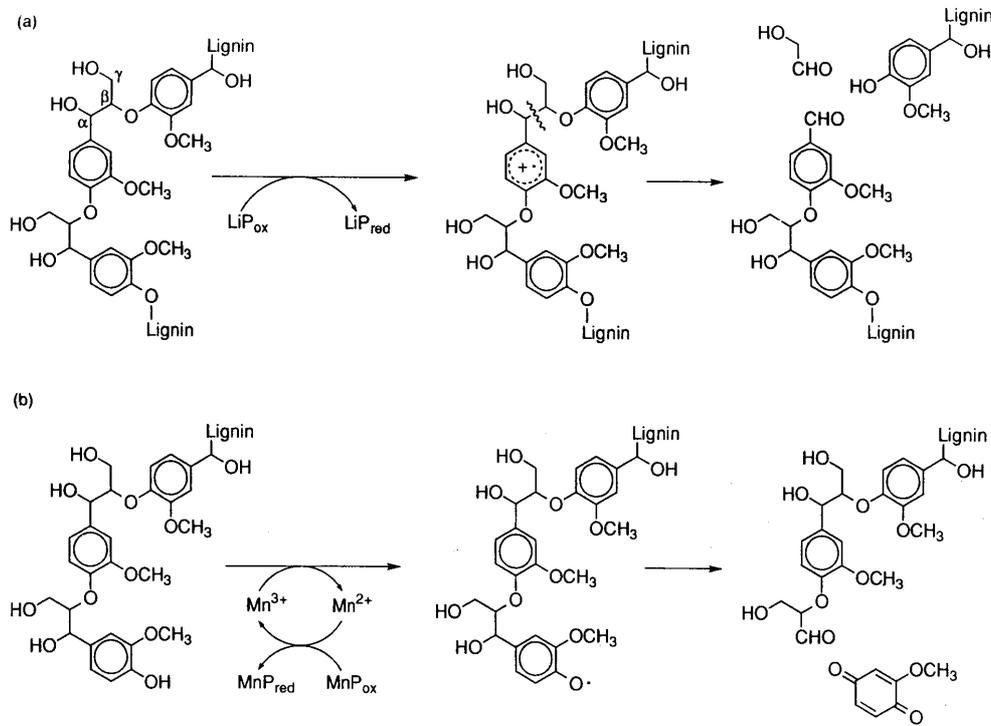
dégradation de la lignine (Tuomela *et al.*, 2000). Cette dégradation de la lignine par les champignons de la pourriture s'effectue par l'intermédiaire d'enzymes oxydatives. Par la nature et la taille de la lignine, ces enzymes responsables de l'attaque initiale, doivent être extracellulaires et peu spécifiques (Kirk & Farrell, 1987).

Les laccases (EC1.10.3.2.) sont des métalloprotéines contenant des atomes de cuivre. Ces atomes de cuivre sont réduits lors de l'oxydation des substrats. D'après Bourbonnais & Paice (1990), ces laccases catalysent l'oxydation d'un large spectre de composés phénoliques (mono-, di- et polyphénols) et des amines aromatiques (anilines). Cette oxydation consiste en un transfert d'électrons du substrat à l'oxygène en formant des molécules d'eau (Hammel, 1997). Après avoir reçu quatre électrons, la laccase réduit l'oxygène moléculaire en eau, et retrouve son état natif. La perte d'un électron entraîne la formation de radicaux, pouvant polymériser spontanément ou continuer à être dépolymérisés.

La lignine peroxydase (EC 1.11.1.14) ressemble à d'autres peroxydase, c'est-à-dire qu'elle contient un hème ferrique et fonctionne par l'intermédiaire d'un cycle catalytique de peroxydase typique (Kirk & Farrell, 1987). L'enzyme est oxydée par  $H_2O_2$  en un intermédiaire déficient en deux électrons, puis revient à son état de repos en exécutant deux oxydations sur le substrat donneur. La lignine peroxydase génère des radicaux cations, des réactions de clivage des liaisons  $C\alpha-C\beta$  (Figure 23a) et l'ouverture de cycles. La lignine peroxydase oxyde non seulement les substrats habituels des peroxydases tels que des phénols et des anilines, mais également une variété de structures non phénoliques de lignine et d'autres éthers aromatiques qui ressemblent à l'unité structurale de base de la lignine (Hammel, 1997).

Les manganèse peroxydases (EC 1.11.1.13) sont aussi des hémoprotéines renfermant du fer. Elles sont similaires aux peroxydases à la différence que Mn (II) est obligatoirement le donneur d'électron. Mn (II) est oxydé en Mn (III). La réaction nécessite la présence d'acides organiques chélateurs tels que le glycolate ou l'oxalate, stabilisant le manganèse (III) et favorisant son dégagement de l'enzyme. Le manganèse (II) peut ainsi agir à distance, éloigné du site actif de l'enzyme. Le complexe manganèse (III) - acide organique oxyde, à son tour, les composés phénoliques de la lignine (Mester & Field, 1997). Cependant, ces manganèse peroxydases n'ont pas un potentiel oxydant très important et ne peuvent, par conséquent, pas attaquer les structures non phénoliques récalcitrantes qui prédominent dans la lignine. Hammel (1997) explique que le manganèse (III) chélaté oxyde ainsi les structures

phénoliques les plus réactives qui composent approximativement 10% de la lignine. Ces réactions ont comme conséquence un degré limité dans la ligninolyse, par la coupure de la liaison C $\alpha$ -Caryl et d'autres réactions dégradantes (Figure 23 b).



**Figure 23** : (a) Coupure par une lignine peroxydase de la structure non phénolique interne arylglycérol- $\beta$ -aryl éther de la lignine. (b) Coupure par une manganèse peroxydase de la structure terminal arylglycérol- $\beta$ -aryl éther de la lignine (Extrait de Hammel, 1997)

### 1.2.3.2. Minéralisation et humification

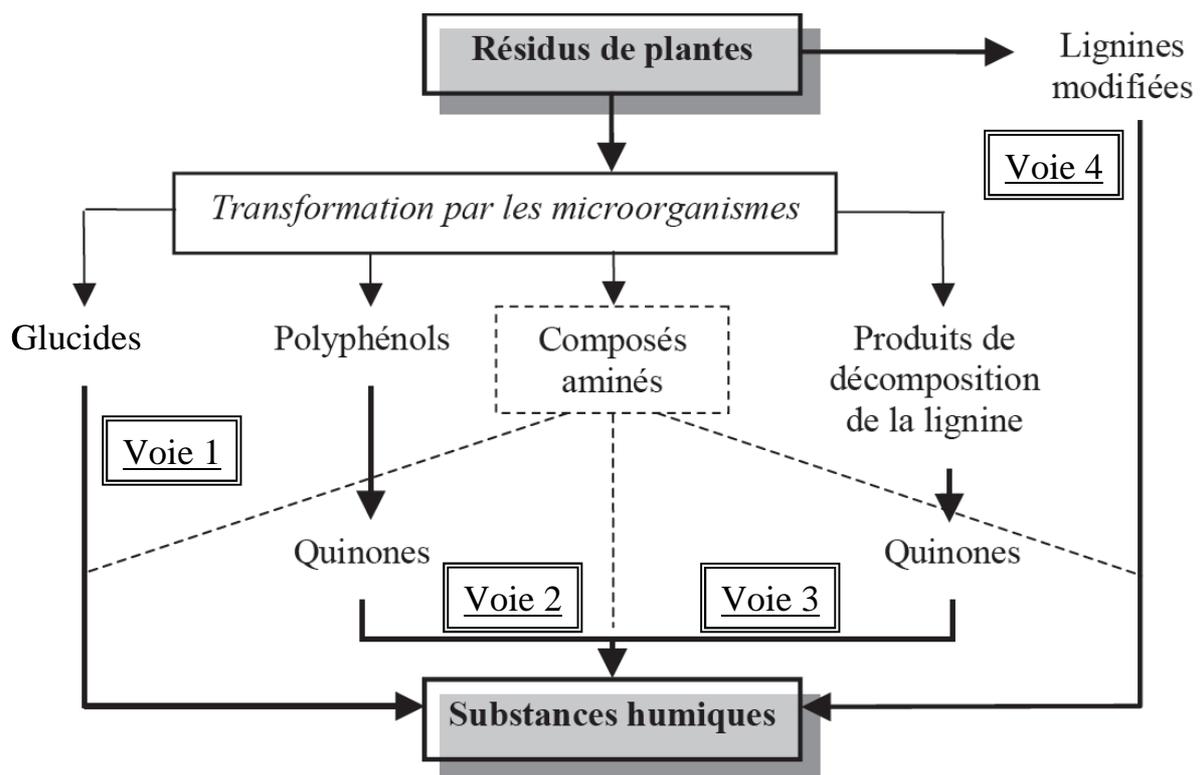
La matière organique peut suivre deux voies : la minéralisation ou l'humification.

La minéralisation est une assimilation par les organismes du compost des composés organiques comme source d'énergie et comme élément pour leur métabolisme, au cours de laquelle la matière organique est transformée en composés minéraux (CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, etc...). La vitesse de minéralisation est très fortement dépendante, d'une part, de la nature des composés organiques et des facteurs environnementaux tels que l'aération ou l'humidité, de la température, du pH et, d'autre part, de l'accessibilité aux micro-organismes de la matière organique. La nature des composés organiques influe considérablement sur la vitesse de minéralisation. Par exemple, la lignine n'est totalement minéralisée que par les champignons

de la pourriture blanche. La biodégradabilité de la matière organique diffère d'un composant à l'autre. Alors que les glucides et les composés azotés sont rapidement minéralisés (De Bertoldi *et al.*, 1983), la lignine, la cutine, la subérine et les tanins condensés présentent une résistance intrinsèque plus ou moins grande, liée à leur structure chimique qui réduit leur biodégradabilité.

L'humification est l'ensemble des processus de transformation de la matière organique engendrant la formation des substances humiques. Après plus de deux cents ans d'étude, les mécanismes de leur synthèse ne sont toujours pas résolus. Les théories classiques de l'humification présentent les processus d'humification soit comme des processus purement biologiques, soit comme des processus biologiques suivis de processus purement chimiques (Stevenson, 1994).

La Figure 24 schématise ainsi les quatre voies théoriques classiques de formation des substances humiques.



**Figure 24 :** Les quatre voies de l'humification (Stevenson, 1994)

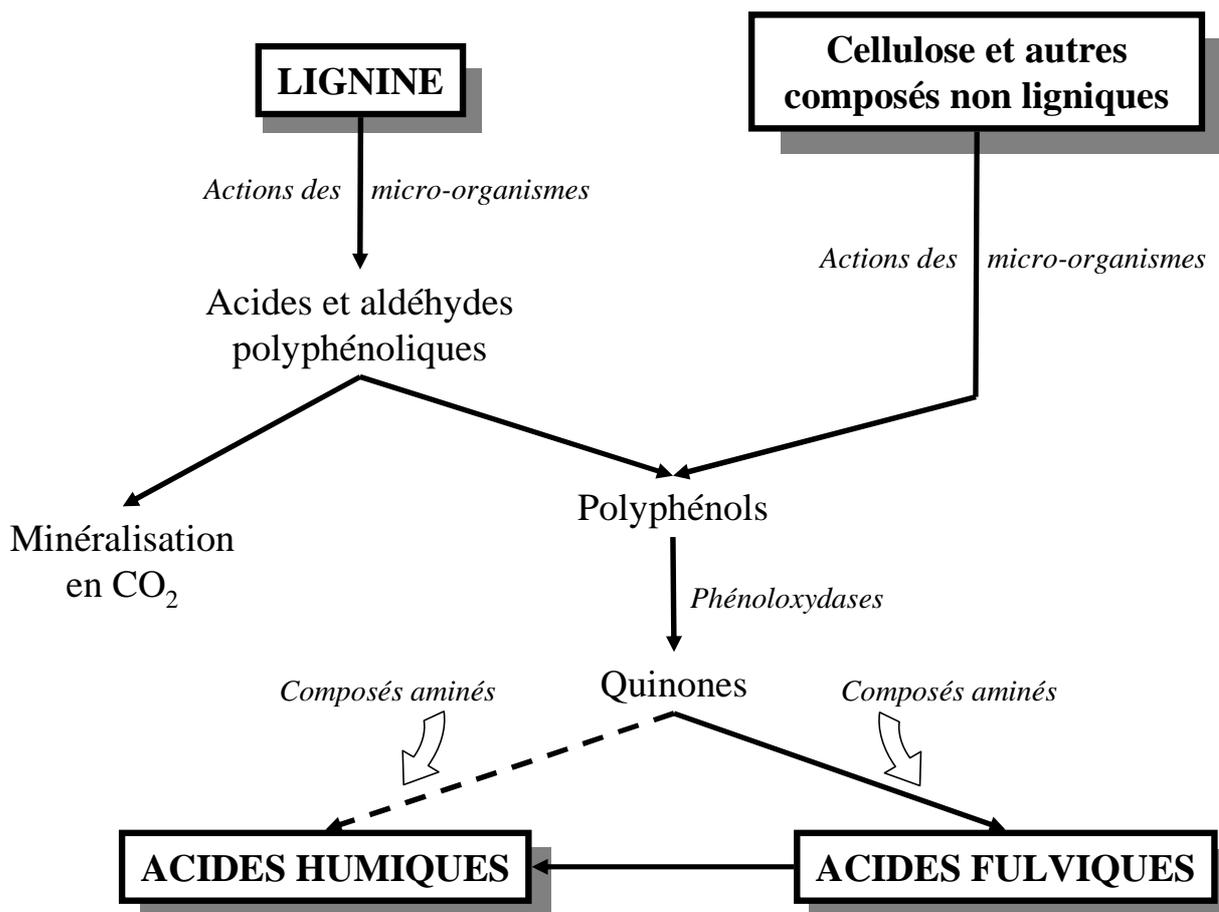
- La voie 1 est strictement chimique et est connue sous le nom de la réaction de Maillard. Glucides réducteurs et acides aminés, sous produits du métabolisme microbien, se condensent sans catalyse enzymatique et conduisent à des mélanoïdes de couleur brun.

- La voie 2 privilégie la formation de polyphénols par les micro-organismes à partir de composés non ligniques. L'oxydation enzymatique de ces polyphénols en quinones est suivie d'une polymérisation produisant les substances humiques.

- Dans la voie 3, les acides et aldéhydes phénoliques, produits de la dégradation microbienne de la lignine, sont convertis en quinones sous l'action d'enzymes. Ces quinones ensuite polymérisent en présence ou absence de composés aminés et forment les substances humiques.

- La voie 4 est appelée théorie ligno-protéique développée par Waksman (1936). Les composés aminés des micro-organismes réagissent avec les lignines modifiées. Les lignines sont dégradées de façon incomplète, provoquant une perte des groupes méthoxyl (OCH<sub>3</sub>), la génération de O-hydroxyphénols, et l'oxydation des composés aliphatiques conduisant à la formation de groupes COOH.

La théorie classique de synthèse des substances humiques, popularisée par Waksman, présentant les substances humiques comme des lignines modifiées (voie 4) est devenue obsolète pour de nombreux auteurs selon Stevenson (1994). La majorité de la communauté scientifique actuelle privilégie les mécanismes impliquant les voies 2 et 3, *i.e.* les mécanismes impliquant des polyphénols et des quinones. Une schématisation de ces théories est représentée par la Figure 25. Dans ce modèle, la première étape est la réduction des macro molécules végétales, y compris la lignine, en leurs monomères. Certains d'entre eux polymérisent sous l'action d'enzymes ou spontanément dans certaines conditions et produisent des molécules plus complexes. L'ordre de formation des substances humiques, dans ce cas, est : acides fulviques => acides humiques => humines (Stevenson, 1994). Ce modèle est l'inverse de celui impliquant la théorie ligno-protéique où la condensation des résidus de lignine modifiée et de composés aminés, conduit à la formation d'acides humiques qui se fragmentent en acides fulviques.



**Figure 25** : Représentation schématique de la formation des substances humiques par la théorie polyphénolique

Pour résumer, différents types de réactions conduisent à la production de substances humiques. Ainsi, une origine multiple est suspectée (Stevenson, 1994), même si la voie majeure de formation de ces substances semble être constituée par les réactions de condensation impliquant des polyphénols et des quinones. Cependant le nombre de précurseurs est élevé et le nombre de voies dans lesquelles ces composés peuvent se combiner est incommensurable.

## I.3. Qualité du compost

L'évaluation de la maturité du compost a été largement identifiée en tant qu'un des problèmes les plus importants de l'utilisation du compost comme amendement. Pour Mondini & Insam (2003), l'emploi de biodéchets provenant d'horizons divers rend indispensable la détermination de la qualité des composts avant leur utilisation en agriculture. En effet, les plus importants facteurs affectant le succès de l'utilisation de compost comme amendement agricole sont les degrés de stabilité et de maturité (Said-Pullicino *et al.*, 2007). Ainsi, Larre-Larrouy & Thuries (2006) affirment que la gestion du processus de compostage doit tenir compte de la valeur agronomique potentielle du produit final en évaluant son degré de maturité.

### I.3.1. Définition de la qualité d'un compost

La qualité d'un compost est difficile à définir et demeure une notion évasive (Lasaridi *et al.*, 2006). La stabilité et la maturité du compost sont essentielles pour une utilisation optimale comme amendement et source de nutriments pour les plantes (Amir, 2005). Francou (2003) juge que le terme de maturité reste souvent ambigu, bien que fréquemment cité dans la littérature. Dans la majorité des articles, la stabilité et la maturité ne sont, soit définies que de manière implicite, soit pas définies du tout. Deux approches distinctes co-existent pour décrire la qualité des composts.

La première s'appuie sur la notion de transformation d'une matière organique initiale très fortement biodégradable, en une matière organique stable en fin de compostage. Le degré de stabilité du compost est alors estimé par la biodégradabilité des matières organiques et par leur humification (Garcia *et al.*, 1993; Bernal *et al.*, 1998; Chen, 2003; Grigatti *et al.*, 2004; Castaldi *et al.*, 2005c; Adani *et al.*, 2006; Tang *et al.*, 2006).

La seconde approche considère les effets du compost sur les végétaux. Le degré de maturité est, dans ce cas, relié à l'absence de préjudice pour les plantes suite à l'utilisation de compost. En effet, Tiquia *et al.* (1997) expliquent que l'apport de compost immature dans un sol engendre des effets négatifs sur la germination et sur la croissance et le développement des plantes. Dans cette optique, le meilleur indicateur de maturité d'un compost reste l'estimation de sa phytotoxicité. De nombreuses études de cet aspect (Tiquia & Tam, 1998; Albuquerque *et al.*, 2006) suggèrent qu'un compost stable ne signifie pas nécessairement qu'il soit mature puisqu'il peut encore avoir un effet inhibiteur ou phytotoxique sur la croissance des plantes.

### I.3.2. Recherche de la maturité

L'utilisation agronomique du compost immature, dont la matière organique n'est pas suffisamment stabilisée, est une des causes, les plus fréquemment rencontrées, d'effets néfastes sur le rendement des récoltes (Jimenez & Garcia, 1989). L'effet le plus dangereux de l'application d'un compost insuffisamment mûr reste la séquestration biologique de l'azote disponible du sol par les populations microbiennes (Bernal *et al.*, 1998). Ceci peut provoquer une déficience en N pour la plante. L'immobilisation de l'azote minéral de sol est due au haut rapport C/N qui caractérise habituellement un compost immature. Ceci engendre une importante augmentation des micro-organismes du sol qui décomposent le considérable excès de composés carbonés présents et assimilent ainsi l'azote pour leur métabolisme et leur croissance (Bernal *et al.*, 1998).

En dehors de cet excès de carbone, la rapide décomposition d'un compost immature peut causer de sérieux dégâts sur le sol et les plantes. Ainsi, la diminution de la concentration en O<sub>2</sub> dans le sol peut mener à la création de zones anaérobies et fortement réductrices (Chikae *et al.*, 2007). Deportes *et al.* (1995) rapportent que l'accessibilité des métaux lourds diminue avec l'avancement de la maturité du compost. Pour Jimenez & Garcia (1989), la création de ces zones réductrices augmente la solubilité de plusieurs métaux lourds car les formes réduites sont plus solubles que leurs formes oxydées. L'augmentation de leur solubilité dans le sol peut alors causer une absorption accrue et ainsi augmenter leur concentration dans la plante, jusqu'à atteindre des niveaux phytotoxiques.

Par ailleurs, Deportes *et al.* (1995) rapportent que la forte augmentation de l'activité microbienne du sol engendre une élévation de la température à des niveaux incompatibles avec les fonctions physiologiques normales des racines. De même, la production de substances phytotoxiques, lors de la décomposition du compost, peut provoquer une inhibition de la germination des graines. La plante réagit à cet environnement inhibiteur en abaissant son niveau métabolique, c'est-à-dire en réduisant sa respiration, l'absorption des nutriments et, selon Bonneau & Souchier (1980) cités par Jimenez & Garcia (1989), en ralentissant la synthèse de gibbérellines et de cytokinines et leur transport vers les parties aériennes.

La présence de composés phytotoxiques est une autre cause de dégâts engendrés par l'application de compost immature. L'effet phytotoxique du compost immature est dû, entre autres causes, à l'émission d'ammoniaque (Tang *et al.*, 2006). En effet, la présence de l'ammoniaque dans le sol, même en petite quantité, a été décrite comme toxique pour les

racines, pour le développement normal des plantes ainsi que pour la germination des graines (Jimenez & Garcia, 1989). Wong (1985) rapporte qu'un oxyde d'éthylène, synthétisé pendant la décomposition du compost dans le sol, participe aussi à cet effet phytotoxique. La présence d'acides organiques dans le compost immature a également été décrite comme cause de sa phytotoxicité (Manios *et al.*, 1989, Albuquerque *et al.*, 2006).

Par ailleurs, un compost immature incorporé au sol présente un potentiel de nuisance olfactive (Deportes *et al.*, 1995, Lasaridi *et al.*, 2006). Par conséquent, il est essentiel de déterminer le degré de maturité au moyen de méthodes rapides pour éviter tous ces effets nuisibles possibles.

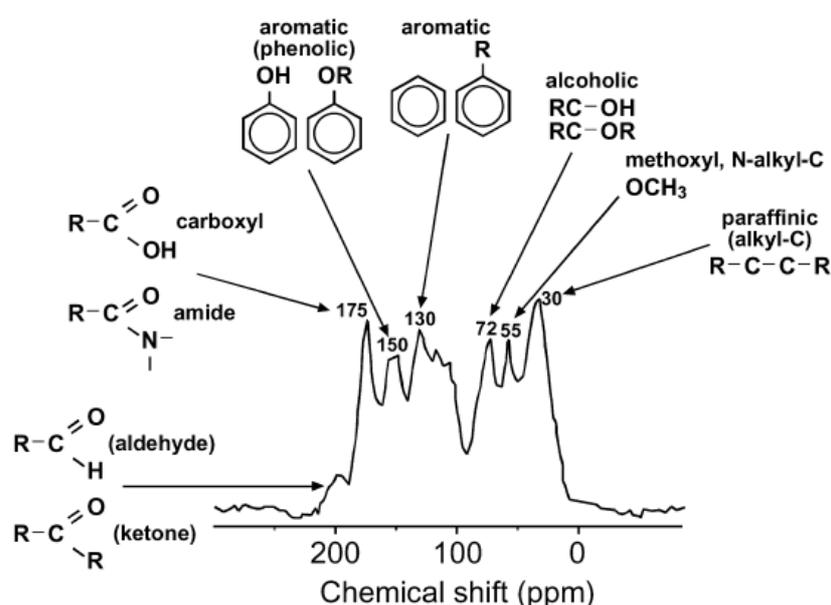
### I.3.3. Evolution et humification de la matière organique

Les principales techniques utilisées aujourd'hui pour étudier la stabilisation des composts au cours du compostage sont la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectroscopie UV - visible, le proche infrarouge (SPIR), infrarouge (IR) et la pyrolyse couplée à un spectromètre de masse.

#### ***I.3.3.1. Résonance magnétique nucléaire (RMN)***

Pour Conte *et al.* (2004), ce type de spectroscopie représente l'approche expérimentale la plus puissante pour collecter directement des informations sur les structures et les conformations des squelettes carbonés des substances humiques. La RMN possède la particularité de sonder l'environnement local d'un noyau choisi à travers la caractérisation des interactions influençant la relaxation. Grâce aux mouvements browniens des molécules, les interactions dans les liquides se réduisent principalement au couplage scalaire de sorte qu'un spectre RMN liquide est généralement composé de pics extrêmement fins et, conséquent, il est possible de distinguer les différents groupes d'atomes au sein de la molécule. Cependant, la RMN des solides n'en est pas encore à ce niveau de haute résolution. En effet, la rigidité du réseau cristallin accentue fortement l'influence sur la relaxation d'interactions d'origines diverses. Ainsi le caractère anisotrope des interactions génère des élargissements de raies de résonance. La technique la plus souvent utilisée pour éliminer, ou tout au moins réduire ces élargissements consiste à mettre l'échantillon en rotation à l'angle magique (angle de  $54,7^\circ$  par rapport au champ magnétique statique). Dans le cas du  $^{13}\text{C}$  (spin  $1/2$ ), les contributions des couplages scalaires et dipolaires sont noyées dans l'élargissement dû à l'anisotropie de

déplacement chimique. L'observation des atomes de carbone est rendue possible grâce à la technique de polarisation croisée (CPMAS) qui consiste à transférer l'aimantation d'un noyau abondant tel que  $^1\text{H}$  vers le noyau peu abondant tel que  $^{13}\text{C}$ . L'inconvénient majeur de l'utilisation de la RMN pour l'étude des matières organiques provient des problèmes induits par les composés paramagnétiques (Conte *et al.*, 2004). Un spectre peut être subdivisé en régions correspondant spécifiquement à un type de structure carbonée comme l'indique l'exemple de la Figure 26.



**Figure 26** : Classifications des signaux en CPMAS d'un acide humique (Extrait de Kogel-Knaber, 2002)

### 1.3.3.2. La spectroscopie UV- visible

Le principe de la spectroscopie UV - visible repose sur des transitions électroniques, *i.e.* le passage d'un électron d'une orbitale stable vers une orbitale instable, engendrées par l'absorption de radiations électromagnétiques dans les régions UV (200 - 400 nm) et visible (400 - 800 nm). Dans le cas des composés organiques, ces transitions électroniques correspondent à des changements d'orbitales moléculaires de groupes fonctionnels spécifiques (chromophores). Ainsi, les spectres d'absorption d'un composé peuvent être utilisés pour sa caractérisation. La spectroscopie UV - visible a ainsi été utilisée par de nombreux auteurs pour caractériser les substances humiques (Swift, 1996; Thomsen *et al.*, 2002; Domeizel *et al.*, 2004; Zbytniewski & Buszewski, 2005).

### ***I.3.3.3. La spectroscopie proche infrarouge (SPIR)***

La SPIR mesure des intensités d'absorption de radiations électromagnétiques dans les régions proche infrarouge (800 - 2500 nm) par les matières organiques. Le principe repose sur le fait que les liaisons chimiques O-H, N-H, C-H, etc. se comportent comme des oscillateurs vibrant en permanence à des fréquences spécifiques. Ces liaisons peuvent absorber une radiation proche infrarouge dont la fréquence est égale à sa fréquence de vibration et ainsi passer d'un état fondamental à un état excité. Les transitions énergétiques se font entre les niveaux d'énergie de rotation des molécules ou entre leurs niveaux d'énergie de vibration. De même, l'énergie des radiations dont les fréquences sont des multiples de la fréquence fondamentale peut être absorbée. On parle alors d'harmoniques. La SPIR est une technique fortement reproductible, capable de produire un « fingerprint » chimique précis des matières organiques (Ben-Dor *et al.*, 1997). La SPIR apparaît aussi comme un outil précieux pour prédire les fractions organiques de carbone de sol (Cozzolino & Moron, 2006), notamment les teneurs en C et N (Garcia-Ciudad *et al.*, 1999; Cozzolino & Moron, 2006). La SPIR a également été largement appliquée à l'étude des processus de décomposition dans les sols et les litières (Joffre *et al.*, 1992; Gillon *et al.*, 1993; Couteaux *et al.*, 2005).

### ***I.3.3.4. La spectroscopie infrarouge (IR)***

L'IR mesure des intensités d'absorption de radiations électromagnétiques dans les régions infrarouge (2500 - 25000 nm). Le principe repose sur les variations d'énergie de vibration et de rotation. L'IR a suscité beaucoup d'intérêt dans le cadre de l'étude des substances humiques (Sanchez-Monedero *et al.*, 2002; Reveille *et al.*, 2003) grâce à l'utilisation de spectromètres à transformés de Fourier. Une revue a notamment été conduite par Chen (2003) sur l'application de l'IR, complétée par des analyses RMN, dans la détermination de la maturité des composts.

### ***I.3.3.5. Analyse par pyrolyse***

L'analyse par pyrolyse implique une dégradation thermique, entre 650°C et 750°C, des matières organiques en absence d'oxygène qui permet la caractérisation de nombreuses macromolécules organiques grâce à un chromatographe en phase gazeuse et à un spectromètre de masse (pyrolyse-CG/SM). Cette approche semi-quantitative (Dignac *et al.*, 1998) manque

de représentativité selon Chen (2003) du fait de la forte sensibilité des composés les plus volatils tels que certains composés lipidiques. Cependant, cette technique a permis à Dignac *et al.* (2005) de calculer deux indices : le rapport furancarboxaldéhyde (produit engendré par la pyrolyse des polysaccharides) / pyrrole (dérivé de composés azotés) et le rapport acide acétique (dérivé de produits biodégradables) / pyrrole. Ces deux rapports diminuent avec l'augmentation de l'humification de la matière organique pendant le compostage.

### I.3.4. Les critères d'évaluation de la maturité d'un compost

Différents paramètres peuvent être utilisés pour déterminer la stabilité et maturité du compost. Une étude effectuée par ADAS Consulting Limited (2005) recense les diverses définitions proposées dans la littérature. Le terme de stabilité y est défini par 12 paramètres parmi 49 références bibliographiques et la maturité selon 7 paramètres parmi 44 références. La répartition des termes recueillis dans la littérature est récapitulée dans le Tableau 2. L'activité biologique, le degré de décomposition et les effets sur les plantes sont les principaux paramètres cités. Aucun test officiel ou standard n'existe actuellement pour évaluer chacune de ces deux caractéristiques de l'état du compost.

**Tableau 2** : Paramètres de stabilité et de maturité (en % d'apparition dans la littérature) extrait de A.D.A.S Consulting Limited (2005).

<i>Stabilité</i>	%	<i>Maturité</i>	%
Activité biologique ou respiration	35	Effets sur les plantes	45
Degrés ou stades de décomposition	20	Degrés de décomposition (C/N)	23
Mauvaises odeurs	14	Activité biologique ou respiration	11
Consommation d'azote	8	Bénéfices agraires (texture, rétention en eau...)	9
Disponibilité des nutriments	6	Odeurs	9
Phyto-toxicité	4	Pathogènes	4
Carbone disponible ou autres sources	2	Couleur	2
Couleur	2		
Dissolution des métaux lourds	2		
Humidité	2		
Risques environnementaux pour la santé	2		
Texture	2		
	100		100

#### ***1.3.4.1. Méthodes empiriques***

Le pratique du compostage est connue depuis extrêmement longtemps et différentes méthodes empiriques ont permis aux utilisateurs de déterminer la maturité des composts bien avant l'essor des sciences modernes. L'approche sensorielle permet, par exemple, de juger de son stade de maturité (Jimenez & Garcia, 1989; Mbuligwe *et al.*, 2002). Un compost à maturité comprend les caractéristiques suivantes :

- ne dégage pas d'odeur d'ammoniacale
- sa température est basse même si le compost est humidifié
- granuleux, foncé et odeur boisée agréable
- plus de distinction à l'oeil nu du compost et des composés d'origine

Cependant, ces méthodes simples et rapides doivent être complétées par des analyses plus précises en laboratoire (Charnay, 2005).

#### ***1.3.4.2. Caractéristiques physico-chimiques classiques***

La majorité des études, relatives au degré de maturité des composts, se base sur l'évolution des paramètres physico-chimiques tels que le pH, le rapport C/N, le taux de matière organique, le rapport d'humification, la capacité d'échange cationique (CEC)...

##### Mesure de pH

Le pH a été l'un des premiers indicateurs chimiques de la maturité des composts et a été utilisé dans de nombreuses études. Jimenez & Garcia (1991) et Cayuela *et al.* (2006) ont en effet observé une élévation du pH pendant le compostage. Selon Avnimelech *et al.* (1996), les pH acides sont caractéristiques des composts immatures alors que les composts mûrs ont des pH compris entre 7 et 9.

##### Capacité d'échange cationique (CEC)

Le processus d'humification produit des groupes fonctionnels et augmente l'oxydation de la matière organique, provoquant ainsi un accroissement de la CEC. Selon Jimenez & Garcia (1989), une CEC supérieure à 60 meq/100g de matière organique est nécessaire pour considérer un compost comme mûr.

### Le rapport C/N

Le rapport C/N (carbone organique / azote organique) diminue pendant le compostage. Ce paramètre est le plus couramment mesuré pour évaluer la maturité d'un compost. Iglesias-Jimenez & Garcia (1989) estiment qu'un rapport inférieur à 20 et même 15 caractérise un compost mûr. Chefetz *et al.* (1996) et Namkoong *et al.* (1999) expliquent qu'un compost caractérisé par un rapport de 10 – 15 peut être considéré comme stable bien que le ratio final dépendant des matières initiales utilisées. Le C/N dans les composts est comparé au rapport C/N, proche de 10, des sols humiques (Charnay, 2005).

### Le rapport $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$

L'apparition des nitrates dans le compost peut, en effet, être un indicateur de maturité. Les micro-organismes nitrifiants induisent une diminution de la concentration en ammonium  $\text{NH}_4^+$  et une apparition d'ions nitrate  $\text{NO}_3^-$ . Le rapport  $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$  est ainsi utilisé par certains auteurs comme indicateur de maturité. Cependant, selon Francou (2003), ce rapport est peu utilisé et les résultats obtenus sont très différents.

### Humification : rapport (AH/AF)

Les processus d'humification ont incité de nombreux auteurs à étudier les matières organiques humifiées ou substances humiques. Le fractionnement chimique de la matière organique en humine, acides humiques et fulviques a conduit certains auteurs à élaborer des indicateurs de maturité. Des études montrent notamment une augmentation significative du rapport acide humique sur acide fulvique (AH/AF) au cours du compostage (Veeken *et al.*, 2000 ; Jouraiphy *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2006). Les résultats trouvés dans la littérature sont assez concordants avec des valeurs inférieures à 1 pour des composts immatures, et supérieures à 1 ou 3 pour les composts mûrs.

### ***I.3.4.3. Activités biologiques***

#### Mesures de la respiration

Les mesures de respirations reposent sur l'activité respiratoire des micro-organismes présents dans le compost. Un compost immature est caractérisé par une demande en O<sub>2</sub> et un taux de production de CO<sub>2</sub> importants, dus à une intense activité microbienne provoquée par la forte biodégradabilité des substrats (Bernal *et al.*, 1998; Lasaridi & Stentiford, 1998) contrairement à un compost mature, plus stable et moins actif. De nombreux auteurs ont ainsi étudié les relations entre l'activité des micro-organismes et le temps de compostage par différentes méthodes respirométriques (Iannotti *et al.*, 1994; Adani *et al.*, 2001; Barrena Gomez *et al.*, 2005; Tremier *et al.*, 2005).

#### Activités enzymologiques

Les enzymes importantes impliquées dans le processus de compostage incluent des cellulases, des hémicellulases, des phénoloxydases, des protéases, des lipases, des phosphatases et leurs activités évoluent en fonction de degré de décomposition de la matière organique. Ainsi, des niveaux élevés d'activités protéase, lipase et cellulase ont été mesurés pendant la phase active du compostage (Mondini *et al.*, 2004; Goyal *et al.*, 2005; Cunha-Queda *et al.*, In Press). Cependant, le compostage étant effectué à partir de substrats organiques très différents et par de nombreux procédés, Mondini *et al.* (2004) estiment que l'établissement de valeurs seuils générales d'activités enzymatiques comme indice de maturité est extrêmement difficile. En effet, les activités enzymatiques mesurées à maturité sont spécifiques des composts testés. Ainsi, ces auteurs affirment qu'il est nécessaire d'utiliser plusieurs enzymes et préférable d'effectuer une étude dynamique des activités enzymatiques tout au long du compostage.

#### Etude des communautés microbiennes

Les successions de communautés microbiennes au cours du compostage sont bien connues (Mondini & Insam, 2003; Tang *et al.*, 2004) et de nombreuses méthodes ont déjà été employées dans le cadre de leur étude telles que l'analyse de l'ARN 16S ou 18S, l'étude des acides gras des phospholipides (PLFA) ou l'analyse des profils quinones (Blanc *et al.*, 1999;

Kurisu *et al.*, 2002; Boulter-Bitzer *et al.*, 2006). Un outil semble très prometteur : l'étude des profils métaboliques par microplaque Biolog. Cette technique consiste à étudier la croissance microbienne sur différentes sources de carbone, permettant ainsi de mettre en évidence différents profils physiologiques ou community level physiological profiles (CLPP). Mondini & Insam (2003) affirment que cette technique apparaît comme un indicateur prometteur du degré de maturité mais ajoutent, néanmoins, que des améliorations méthodologiques sur la standardisation de l'inoculum utilisé sont nécessaires.

#### Test d'auto-échauffement

L'intense activité des micro-organismes dans les composts immatures a pour conséquence la production de chaleur lors de la dégradation des composés les plus simples et les plus accessibles. Ainsi, il est possible de mesurer le degré de décomposition de la matière organique d'un compost par une mesure de l'élévation de température après ré-humidification. Plusieurs travaux ont montré la pertinence de ce test pour évaluer la maturité des composts (Brinton *et al.*, 1995; Leifeld *et al.*, 2001).

#### Test Solvita<sup>®</sup>

Le test Solvita<sup>®</sup> est basé sur la minéralisation du carbone et la volatilisation de l'ammoniac commercialisé sous le nom de test Solvita<sup>®</sup> (Woods Research<sup>®</sup> Management, USA). Ce test est réalisé sur des composts dont l'humidité est ajustée à un niveau correspondant à l'activité microbienne optimale. Ce test combine une estimation de la minéralisation du carbone et une estimation de la volatilisation de l'ammoniac (Francou, 2003). Un indice global, à partir de deux indicateurs colorés, de 6 ou plus, sur une échelle de 1 à 8, correspond à un compost mûr. Changa *et al.* (2003) montrent que ce test apporte d'utiles informations sur les concentrations excessives et toxiques d'ammoniac dans les composts et concluent que la méthode Solvita<sup>®</sup> est un test simple et peu onéreux de la stabilité des composts et de l'émission de NH<sub>3</sub>.

#### ***1.3.4.4. Valeurs agronomiques, tests sur plantes***

##### Phytotoxicité

La stabilité du compost ne prend pas en compte automatiquement son action sur les plantes. Les tests de phytotoxicité sont les seuls moyens d'évaluer la toxicité liée à leur incorporation au sol. En effet, les composts mûrs ne doivent pas présenter de substance empêchant la germination des graines et la croissance des plantes. L'acide acétique est probablement l'acide organique, libéré par les composts immatures, le plus préjudiciable bien qu'il existe également d'autres composés (acétaldéhyde, éthanol, acétone, éthylène...) contribuant aux effets phytotoxiques (Jimenez & Garcia, 1989). Des concentrations élevées en sels et la libération d'acides organiques dans les composts sont également corrélées à l'inhibition de la germination et de la croissance. Par conséquent, la phytotoxicité est souvent évaluée par l'étude de la germination ou par des tests de croissance (Gariglio *et al.*, 2002; Saebo & Ferrini, 2006; Said-Pullicino *et al.*, 2007), mais Emino & Warman (2004) conseillent de choisir les plantes avec soin. Un indice de germination (GI) de 50% est reconnu comme étant celui d'un compost sans effet phytotoxique (Chikae *et al.*, 2007).

##### Conductivité

La conductivité du compost est fortement dépendante de son contenu en nutriments. Cependant, pour une conductivité supérieure à  $5 \text{ mS.cm}^{-1}$ , l'apport de compost dans le sol doit être limité pour les espèces sensibles aux sels (Saebo & Ferrini, 2006). En effet, les différentes espèces de plantes ont des préférences et des niveaux de tolérance spécifiques et le mélange est l'unique moyen pour réduire la conductivité à un niveau acceptable *i.e.* à un maximum de  $2-3 \text{ mS.cm}^{-1}$  pour Saebo & Ferrini (2006). Cependant, Said-Pullicino *et al.* (2007) ont observé une diminution de la conductivité de  $8.9$  à  $5.0 \text{ mS.cm}^{-1}$  après 250 jours pour un compost (déchets municipaux solides, taille de haies et résidus de l'agro-industrie de tabac). Ces valeurs, encore élevées après 250 jours, sont pourtant caractérisées par un taux de germination de graines d'Ail de 74 % *i.e.* un taux très correct. La conductivité est en réalité très variable selon le type de compost, même si elle a une tendance naturelle à diminuer avec la progression de la maturité.

## Valeurs agronomiques

La qualité d'un compost se juge également sur ses qualités comme amendement organique dans les sols. Le compost assure une faible mobilité des nutriments, notamment de l'azote (Charnay, 2005). La valeur amendante est l'aptitude des composts à entretenir ou augmenter le stock de matière organique du sol (Francou, 2003). Le compost agit tout d'abord en apportant des éléments nutritifs aux sols et aussi en entretenant ou en augmentant le stock de matière organique du sol amendé. Des tests en champ permettent d'estimer les bénéfices de l'apport de composts pour les sols et pour les cultures (Rivero *et al.*, 2004).

Cependant, pour évaluer plus rapidement cette valeur amendante, deux méthodes sont utilisées : l'indice de stabilité biologique (ISB) et la caractérisation biochimique de la matière organique (CBM). Le calcul de ISB est une évaluation de la proportion de matière organique susceptible de contribuer à l'entretien de la matière organique du sol. Francou (2003) explique que Linères & Djakovitch (1993) ont mis au point cette méthode en reliant le niveau de stabilité de la matière organique à la nature biochimique du matériau à partir de taux de carbone restant dans le sol lors d'incubations de longue durée (150 jours) et en le reliant aux fractions biochimiques suivantes : fraction soluble, hémicellulose, lignine obtenue par la méthode de Van Soest et cellulose brute obtenue par fractionnement Weende. Par la suite, Robin (1997) a proposé un autre modèle aboutissant à la détermination du taux de carbone restant dans le sol à long terme : la CBM. Le calcul de la CBM est directement inspiré de celui de l'ISB avec pour différences essentielles : le temps d'incubation qui passe à 40 jours, l'utilisation de la méthode de Van Soest pour toutes les fractions et le fait que l'on tienne compte de la proportion de matières minérales dans le produit de départ (Francou, 2003).

Une synthèse bibliographique (non exhaustive) récapitule la multitude d'indicateurs de maturité existant avec les valeurs seuils pour des composts immatures et des composts matures (Tableau 3). Vu les différences dues aux origines des matières initiales à composter et des techniques de compostage utilisées, les différents critères ne sont pas souvent cohérents et plusieurs auteurs suggèrent ainsi qu'aucun critère n'est utilisable isolément. Ils recommandent donc une combinaison de différentes techniques (Goyal *et al.*, 2005; Boulter-Bitzer *et al.*, 2006).

**Tableau 3** : Exemple de valeurs des principaux indicateurs de maturité

Paramètre	Analyse	Valeurs compost immature	Valeurs compost mature	Références
<b>Chimique</b>	pH	6 - 9	7 - 9	(Francou, 2003)
		5,6 à 7,6	7,1 à 7,5	(Bernal <i>et al.</i> , 1998)
	C/N	> 15	< 15	(Francou, 2003)
		11 à 31	8,6 à 11,8	(Iglesias-Jimenez et Perez-Garcia, 1993)
	NO <sub>3</sub> /NH <sub>4</sub>	21,5	17,9	(Hirai <i>et al.</i> , 1986)
		< 1	1,4 et 6,8	(Forster <i>et al.</i> , 1993)
			> 1	(Senesi, 1989), cité par Serra-Wittling, (1996)
			> 1	(Francou, 2003)
	CEC		> 6,3	(Sanchez-Monedero <i>et al.</i> , 2001)
	AH - AF		> 60 meq / 100 g MS	(Iglesias-Jimenez et Perez-Garcia, 1993)
Rapport AH/AF	0 - 1	1,3 - 1,7	(Castaldi <i>et al.</i> , 2005; Huang <i>et al.</i> , 2006)	
		1,9	(Francou, 2003)	
		0,6 - 0,7	3,33 (Iglesias-Jimenez et Perez-Garcia, 1993)	
			(Hsu et Lo, 1999)	
<b>Spectral</b>	RMN <sup>13</sup> C			(Almendros <i>et al.</i> , 2000; Chen, 2003; Castaldi <i>et al.</i> , 2005)
	Infrarouge			(Chen, 2003; Castaldi <i>et al.</i> , 2005; Huang <i>et al.</i> , 2006)
	UV			(Domeizel <i>et al.</i> , 2003; Huang <i>et al.</i> , 2006)
<b>Activité microbienne</b>	Respirometrie	> 15 g O <sub>2</sub> .kg <sup>-1</sup> MS en 7 j	< 7 g O <sub>2</sub> /kg MS en 7j	(Nicolardot <i>et al.</i> , 1986)
		27.5 mg O <sub>2</sub> .g <sup>-1</sup> VS h <sup>-1</sup>	1.9 mg O <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> VS h <sup>-1</sup>	(Said-Pullicino <i>et al.</i> , 2007)
	Successions des communautés			(Mondini <i>et al.</i> , 2003; Boulter-Bitzer <i>et al.</i> , 2006)
	Enzymologie			(Mondini <i>et al.</i> , 2003; Boulter-Bitzer <i>et al.</i> , 2006)
	Auto-échauffement			(Chikae <i>et al.</i> , 2007)
Solvita®	< 3	5 - 6	(Francou, 2003)	
<b>Effet sur plantes</b>	Germination			(Francou, 2003)
	Valeur agronomique			(Wu <i>et al.</i> , 2001; Chikae <i>et al.</i> , 2006)
				(Said-Pullicino <i>et al.</i> , 2007)
				(Rivero <i>et al.</i> , 2004)

VS: Total volatile solids

# *Conclusion de l'étude bibliographique et objectifs de travail*

---

Cette synthèse bibliographique a montré qu'un grand nombre d'études préconisent la valorisation des boues de station d'épuration et des déchets verts par la technique du co-compostage permettant de produire un amendement organique riche en matière organique stable et humifiée. Ce procédé aérobie se déroule suivant deux phases principales. La première est caractérisée par une forte activité biologique en début de compostage, engendrant une forte minéralisation des matières organiques et une élévation de la température. La seconde est une phase de maturation pendant laquelle les processus d'humification engendrent une stabilisation de la matière organique. La voie naturelle de valorisation par compostage comporte de nombreux avantages notamment la réduction des volumes de déchets, l'hygiénisation et la stabilisation de la matière organique. L'incorporation de compost aux sols s'avère efficace pour lutter contre la dégradation de la surface des sols et améliorer sa porosité et sa structure. Les applications de compost dans les sols permettent également une diminution de l'apport des engrais minéraux lixiviables.

La deuxième partie de cette synthèse bibliographique a concerné les aspects biochimiques du compostage. Les composés organiques potentiellement retrouvés dans les composts de boues de station d'épuration et de déchets verts sont ainsi distingués en substances non-humiques et substances humiques. Les substances non-humiques sont décrites à travers la composition chimique des glucides notamment les polysaccharides (cellulose et hémicelluloses), la lignine, le complexe lignocellulosique, les lipides, les protéines, les tanins et les polyesters lipidiques (la cutine et la subérine). Les substances humiques sont des composés organiques stables, impliqués dans de nombreux processus au sein des composts et dont la structure moléculaire est mal connue. Le compostage entraîne la minéralisation ou l'humification des matières organiques, l'humification se faisant à partir de quatre voies théoriques de formation.

La dernière partie de la synthèse bibliographique s'est focalisée sur le concept de qualité des composts et notamment sur la maturité des matières organiques. Dans ce but, une description non exhaustive des différentes techniques d'étude de la stabilisation des matières organiques (RMN, pyrolyse-CG/SM, spectroscopie UV, IR, SPIR) ainsi que des critères d'évaluation de la maturité des composts a été effectuée.

Cependant, il est primordial de connaître l'état et la qualité des composts utilisés comme amendement dans le cadre d'une bonne gestion de ces amendements organiques. En effet, des composts immatures peuvent produire des effets néfastes tels que des déficiences en N pour les plantes ou des effets phytotoxiques lors de leur application aux sols. Il existe donc de nombreuses méthodes chimiques et biologiques d'évaluation de la stabilité, de la maturité et du pouvoir amendant des composts.

Le premier objectif de ce travail a été d'entreprendre d'explorer les mécanismes physico-chimiques et biologiques impliqués dans le compostage de boues de station d'épuration et de déchets verts. Ainsi, ont été pris en considération d'une part des paramètres physico-chimiques tels que la température, l'humidité, le pH, le carbone, l'azote, le rapport C/N, les teneurs en matières organiques, en acides humiques et fulviques, d'autre part les spectres obtenus en spectroscopie UV - visible et en Résonance Magnétique Nucléaire  $^{13}\text{C}$  du solide et, enfin, des paramètres biologiques tels que les activités respiratoires, l'étude des communautés microbiennes et des activités enzymatiques.

Le second objectif a été de proposer et d'expérimenter un nouvel outil d'évaluation de la qualité des composts synthétisant l'information issue des différents paramètres utilisés.

# *Chapitre II.*

## *Matériels & Méthodes*

---

## II.1. Composts étudiés

Cette étude s'est focalisée sur le compostage de boue de stations d'épuration issues du traitement des eaux usées. Ce compostage nécessite l'ajout initial d'un substrat carboné structurant : les déchets verts. Le compostage permet de valoriser ces deux bio-déchets pour former un produit stable : le compost. Le procédé de compostage étudié est un compostage en andains élaboré par la société Biotechna sur sa plate forme d'Ensues (Bouches du Rhône). Les boues et déchets verts utilisés ont la même origine et leurs caractéristiques sont présentées dans le Tableau 4.

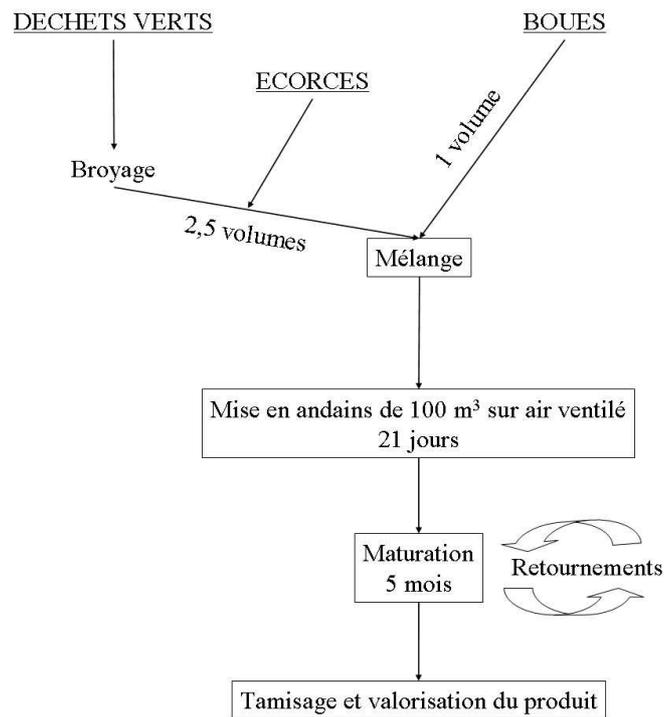
**Tableau 4** : Caractéristiques des composants initiaux et du compost final (suivi sur un an), mesures effectuées par la société Biotechna (Bouches du Rhône)

Paramètres	Déchets verts Moyenne	Boues Moyenne	Compost final Moyenne
pH <sub>H2O</sub>	7,1 (0,2)	7,3 (0,5)	7,4 (0,4)
Matière organique (%)	71,3 (4,8)	72,9 (5,9)	47,5 (3,9)
C / N	30,5 (5,3)	9,6 (6,2)	13,1 (1,3)
Test de germination de cresson (%)	-	-	91,1 (9,2)

valeur entre parenthèse : écart type

### II.1.1. Procédé de compostage

- Andains : La proportion du mélange initial est de 2,5 volumes de broyat de déchets vert et d'écorce de pin pour 1 volume de boues. Ce mélange permet l'obtention d'un volume lacunaire d'environ 30 %, indispensable à la circulation de l'air. Le mélange est réalisé grâce à un chargeur, puis est homogénéisé par retournements. Celui-ci est ensuite acheminé sur une dalle bétonnée équipée de drains, reliés à des ventilateurs permettant l'aération forcée des andains pendant les trois semaines des phases mésophile et thermophile. Une phase de maturation succède à ces deux phases. Le mélange est alors placé en andains (10 m de long, 4 m de hauteur et 5 m de largeur) à l'air libre et retourné bimensuellement durant les deux premiers mois, puis mensuellement jusqu'à six mois. Le compost mature est alors tamisé (20 mm) et valorisé en produit final (Figure 27). Les précipitations moyennes sont de 700 mm par an.



**Figure 27 :** Description du procédé de compostage en andains mise en œuvre par la société Biotechna (Bouches du Rhône)

### II.1.2. Protocole d'échantillonnage

Trois protocoles d'échantillonnage de composts de boues et déchets verts en andains ont été définis.

Une première campagne (A) correspond à des composts d'un même andain suivi pendant six mois grâce à des prélèvements bimensuels. Les composts A correspondent à 15 stades de maturation: 1, 14, 27, 41, 57, 69, 82, 88, 95, 116, 131, 145, 159, 174 et 196 jours de compostage. Les 15 composts A ont été subdivisés en 45 pseudo-réplicats pour analyse.

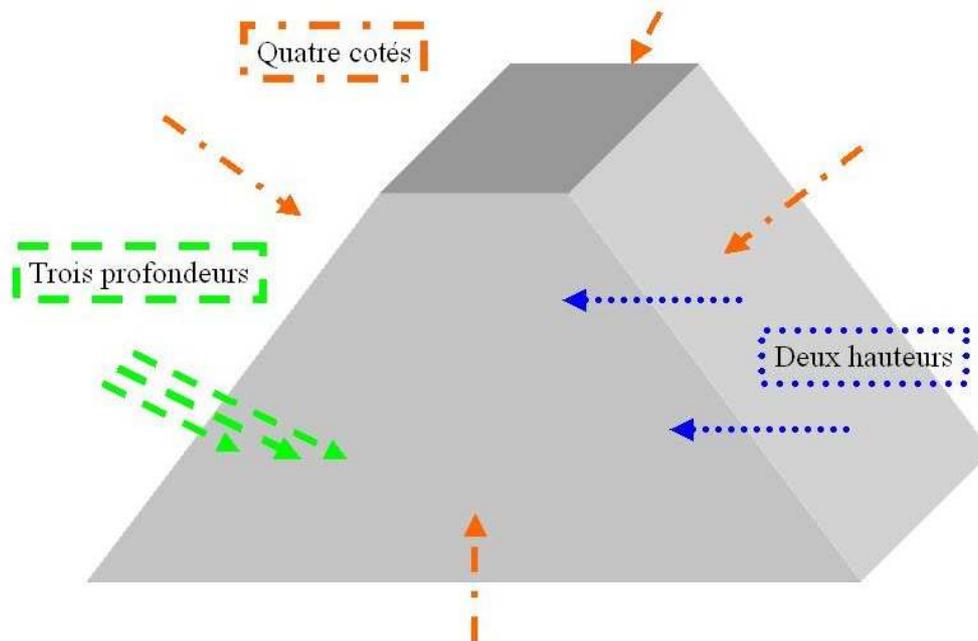
La campagne B provient d'un échantillonnage prenant en compte la variabilité intrinsèque des composts grâce à 44 composts prélevés sur 44 andains différents correspondant à 11 stades de maturation différents : 4, 18, 31, 40, 57, 67, 84, 101, 114, 128 et 146 jours de compostage. Chacune de ces deux procédures A et B correspond à des échantillons prélevés sur la plate forme de Biotechna représentant à partir d'un mélange de 3 prélèvements réalisés à 20 cm de profondeur dans l'andain constituant l'échantillon de

compost rapporté au laboratoire (1kg). Les analyses sur ces échantillons sont répétées trois fois.

La campagne (C) a permis l'établissement d'une banque de données. Dans ce but, 432 échantillons de composts d'andains ont été prélevés sur la plate-forme de Biotechna suivant 4 facteurs prédéfinis et schématisés par la Figure 28.

- 1 facteur maturité avec des composts de 6 stades de compostage : 8, 20, 35, 75, 135 et 180 jours.
- 1 facteur profondeur : prélèvements à 3 profondeurs : 0-20, 20-40 et 40-60 cm dans l'andain
- 1 facteur hauteur : prélèvements à 2 hauteurs : 1,5 et 2,5 m dans l'andain
- 1 facteur orientation (ou coté de l'andain) : prélèvements à 4 positions : est, nord, ouest et sud de l'andain

Soit avec 3 répliqués :  $6 \times 3 \times 2 \times 4 \times 2 \times 3 = 432$  échantillons



**Figure 28** : Facteurs d'échantillonnage pris en compte pour l'établissement de la banque de données

## II.2. Caractérisations physiques et chimiques

Les échantillons de compost utilisés pour les analyses physico-chimiques ont été tamisés à 20 mm, lyophilisés puis broyés à 1 mm (Cyclotec<sup>®</sup> Sample Mill, FOSS).

### II.2.1. Mesure de la température

Avant le prélèvement d'un compost, la température est mesurée *in situ* à l'aide d'un thermomètre électronique de type VT100 équipé d'une sonde de pénétration de type PT100 (Kimo).

### II.2.2. Mesure du pH

Dans un bécher, 10 g de compost tamisé ont été mélangés à 100 mL d'eau bi-distillée. La mesure du pH est effectuée après dix minutes d'homogénéisation à température ambiante à l'aide d'un pH mètre Metrohm (Herisau, Suisse).

### II.2.3. Matière sèche

Immédiatement après l'échantillonnage, une partie aliquote de chacun des composts tamisés à 20 mm a été séchée dans une étuve à 105°C. L'ensemble est pesé avant et après passage à l'étuve. Le séchage est considéré comme complet lorsque la masse est constante (environ 48 heures).

### II.2.4. Matière organique

La teneur en matière organique totale (MO en % de MS) a été déterminée par la perte en masse lors de la calcination de l'échantillon à 550°C, durant 16 heures.

### II.2.5. Analyses élémentaires : C et N

Les teneurs en C et N, dans les échantillons de compost ont été déterminées à l'aide d'un analyseur élémentaire Perkin-Elmer 2400 du Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE) de Montpellier. Les éléments C et N ont été dosés après pyrolyse à 1000°C des échantillons sous courant d'oxygène et après analyse en chromatographie en phase gazeuse des composés formés, N<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>.

### II.2.6. Analyses du phosphore organique et minéral

- Phosphore extractible à l'eau : le phosphore était extrait à l'eau distillée selon la méthode de Zhou *et al.* (2001). Un échantillon de compost de 0,5 g est agité pendant 1 heure à 30°C dans 25 mL d'eau distillée. L'homogénat est centrifugé 5 min à 6000 rpm, puis filtré sur Whatman GF-C en fibre de verre. Le phosphate inorganique PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> extractible à l'eau était alors dosé à 880 nm selon la méthode décrite par Murphy & Riley (1962).

- Phosphore organique : le phosphore organique est minéralisé, par acidification, en phosphore inorganique PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, puis dosé par la méthode décrite par Murphy & Riley (1962). La minéralisation consiste en l'ajout, à 1 g de compost, de 3 mL d'acide sulfurique concentré H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et de 4 mL d'eau distillée. Après refroidissement, 40 mL d'eau distillée étaient ajoutés. Le mélange était agité 2 heures à 150 oscillations / min, puis additionné de 50 mL de soude 1 M. Une centrifugation (5 min à 6000 rpm) suivie d'une filtration (Whatman GF-C en fibre de verre) permet de récupérer une solution contenant les ions PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> dosés à 880 nm selon la méthode décrite par Murphy & Riley (1962).

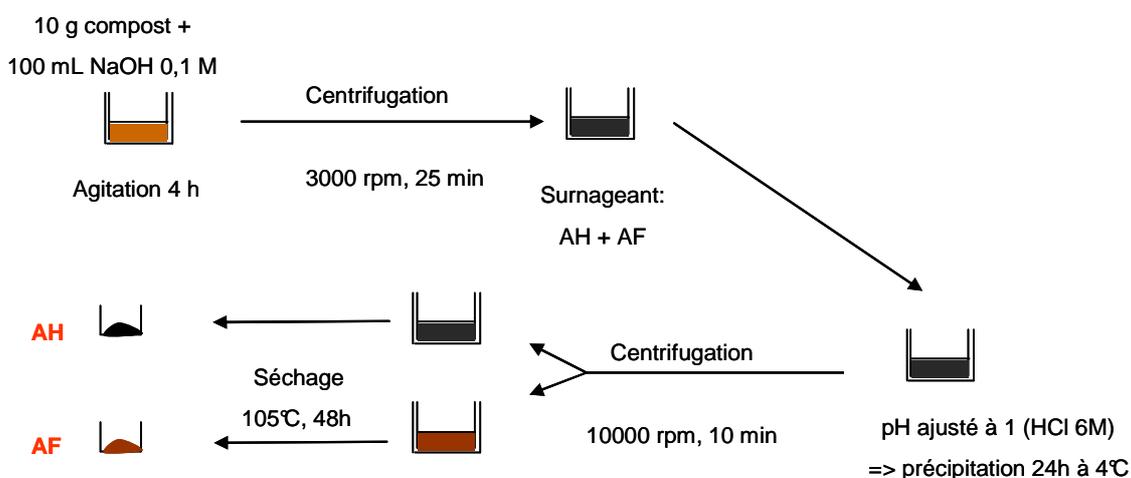
La méthode de dosage des PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> de Murphy & Riley (1962) consiste en l'utilisation de 0,25 mL de filtrat pour la fraction extractible à l'eau et 0,025 mL pour les échantillons minéralisés auxquels sont ajoutés 4,75 mL d'eau distillée et 0,5 mL de réactif colorant. La solution stock de colorant comprend 10,62 g de molybdate d'ammonium tétrahydrate, 0,25 g de tartrate d'antimoine et de potassium, 125 mL d'acide sulfurique concentré, le mélange était ajusté à 500 mL avec de l'eau distillée. Les échantillons étaient incubés 30 min à température ambiante. Une lecture à 880 nm et une courbe étalon permettaient de déterminer la quantité d'ions PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> présente.

## II.2.7. Dosage des ions ammonium et nitrate

Les ions ammonium  $\text{NH}_4^+$  et nitrate  $\text{NO}_3^-$  sont extraits à partir d'une solution de KCl 1 M. Les dosages sont ensuite réalisés sur un système à flux continu "Evolution" de Alliance Instrument muni de membranes de dialyse (CIRAD, Montpellier). Les nitrates sont réduits en nitrites par passage dans une colonne de cadmium conditionnée au cuivre, puis transformés en composé diazoïque par la réaction de Griess-Ilosvay. L'absorbance est mesurée à 550nm. L'ammonium est dosé selon la réaction de Berthelot en milieu alcalin. L'absorbance est mesurée à 660 nm.

## II.2.8. Teneur en acides humiques et fulviques

Le fractionnement réalisé a été adapté de celui utilisé par l'International Humic Substances Society (IHSS). Les acides humiques (AH) et fulviques (AF) sont extraits par agitation à l'aide d'un agitateur rotatif, durant 2 heures à partir de 10 g de compost additionnés à 100 mL de NaOH 0,1 M dans des flacons Erlenmeyer de 250 mL. Cette fraction soluble en milieu alcalin (AH+AF) est récupérée par centrifugation à 2500 rpm durant 25 min. La solution est alors acidifiée à pH 1 par ajout d'acide chlorhydrique HCl 6M. Après une nuit à +4°C, la fraction soluble en milieu acide (AF) d'acides fulviques est séparée de la fraction insoluble d'acides humiques (AH) par centrifugation à 10000 rpm durant 10 min. Les deux fractions sont séchées dans une étuve à 105°C pendant 48 heures (Figure 29).



**Figure 29 :** Extraction des acides humiques et fulviques par différence de solubilité en milieux basique et acide

## II.2.9. Extraction de la lignine

Le fractionnement réalisé est adapté de la méthode de Quoc Lam *et al.* (2001). La lignine et les hémicelluloses sont extraites par dissolution dans un mélange acide acétique - acide formique - eau (50-30-20 v/v). Le rapport solide / liquide est de 1/12 soit 60 mL pour 5 g de compost. La première étape consiste en une imprégnation de 30 minutes à 50°C dans le milieu réactionnel, puis 1 heure à 107°C (point azéotrope d'ébullition du mélange acides / eau). La fraction soluble est alors recueillie après filtration (filtre Whatman GF-D en fibre de verre). Les acides utilisés sont séparés, par distillation, de la lignine et des hémicelluloses constituant le résidu. L'addition d'eau à ce résidu mène à la précipitation de la lignine tandis que les hémicelluloses restent en solution. Une centrifugation de 10 minutes à 10000 rpm permet de séparer les deux biopolymères. La lignine est ensuite lavée à l'eau bi-distillée jusqu'à un pH neutre puis séchée à 105°C pendant 48 heures (Figure 30).

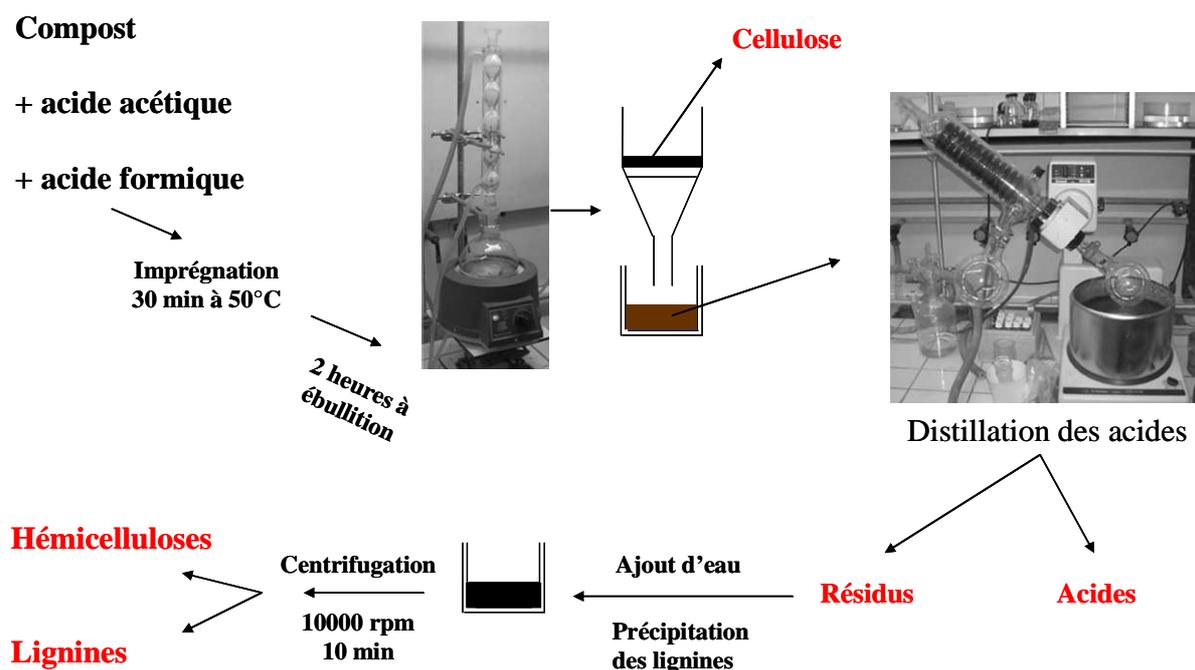


Figure 30 : Protocole d'extraction de la lignine (adapté d'après Quoc Lam et al. (2001))

## II.2.10. Spectroscopie UV - visible

La méthode est adaptée de celle de Zbytniewski & Buszewski (2005). 1 g de compost et 50 mL de NaOH 0,5 M sont agités pendant 2 heures. Une centrifugation (25 min, 3000 rpm) est suivie d'un spectre d'absorption de 200 à 800 nm. Plusieurs absorbances spécifiques (280, 472 et 664 nm) permettent de calculer trois rapports :  $Q_{2/6}$  ( $DO_{280}/DO_{664}$ ),  $Q_{4/6}$  ( $DO_{472}/DO_{664}$ ) et  $Q_{2/4}$  ( $DO_{280}/DO_{472}$ ), utilisés dans la littérature pour décrire les matières organiques (Swift, 1996; Zbytniewski & Buszewski, 2005).

## II.2.11. Spectroscopie proche infrarouge (SPIR)

Les analyses ont été réalisées au Centre d'Ecologie Fonctionnelle et Evolutive (CEFE) de Montpellier à l'aide d'un spectromètre de réflexion NIRS System 6500. Les échantillons sont placés dans une cellule de mesure composée d'un couvercle transparent en quartz et d'un fond amovible permettant de compresser l'échantillon contre le quartz. Les échantillons sont éclairés par une source de radiations monochromatiques situées entre 400 et 2500 nm. L'énergie réfléchi par l'échantillon est mesurée. Un spectre est enregistré pour chaque échantillon, représentant l'absorbance (A) en fonction de la longueur d'onde, avec une mesure tous les 2 nm, soit 1050 points par spectre. La bande passante est de 10 nm et la précision de 0,5 nm. La mesure de la quantité de radiations réfléchies permet de déduire la quantité de radiations infrarouges absorbée par l'échantillon. En effet, la réflectance (R) est convertie en absorbance (A) par la relation suivante :  $A = \log(1/R)$ .

## II.2.12. Résonance Magnétique Nucléaire $^{13}\text{C}$ du solide

Les spectres haute résolution ont été réalisés sur le spectromètre Bruker DSX 400 kHz du Spectropole (Université Paul Cézanne). Les spectres  $^{13}\text{C}$  CP/MAS sont enregistrés à la fréquence de 100,7 MHz avec découplage du proton. Environ 300 mg de compost sont placés dans une sonde de 7 mm inclinée à l'angle magique (angle de  $54,7^\circ$  par rapport au champ magnétique statique) tournant à 6 kHz. Les paramètres d'acquisition utilisés pour un enregistrement optimal sont une impulsion de  $90^\circ$  pour le proton de durée 2,8  $\mu\text{s}$ , un délai de répétition de 3 s, un nombre d'acquisition de 2000, et enfin un temps de contact de 2 ms. La déconvolution des spectres a été effectuée grâce au logiciel DmFit (Massiot *et al.*, 2002).

## II.3. Caractérisations biologiques

L'ensemble des échantillons de compost utilisés pour les analyses biologiques était tamisé à 20 mm et gardé à 4°C avant d'être analysé.

### II.3.1. Mesure de la respiration du compost

La respiration a été mesurée à partir de la consommation de dioxygène par les microorganismes du compost. Pour cela, 10 g de compost sont humidifiés à 60 % et placés dans un flacon de 1 L contenant 125 g d'anneaux de Raschig (cylindre de céramique creux) et un bécher contenant 50 mL de soude 0,5 N. Les anneaux de Raschig permettent d'augmenter la surface d'échanges gazeux. La soude piège le dioxyde de carbone présent initialement dans le flacon et celui dégagé au cours de la respiration. Le compost est incubé 24 h à 20°C. Le système Oxitop® Control (WTW) mesure en continu la pression dans le flacon et permet de calculer une consommation d'O<sub>2</sub>. Les résultats sont exprimés en mg d'O<sub>2</sub> consommé par heure et par g de MS.

### II.3.2. Activités enzymatiques

#### *I.1.1. Activités phénoloxydases : laccase et peroxydase*

Les deux types de phénoloxydases étudiées ont été extraites suivant un même protocole. L'extrait enzymatique est réalisé à partir de 5 g de compost et 25 mL de tampon phosphate de sodium 50 mM, pH 6. Une agitation d'une heure sur table d'agitation va-et-vient (120 oscillations / min) est suivie d'une centrifugation (10000 rpm, 10 min). Un filtre stérile avec membrane en acétate de cellulose (Minisart 16534K, porosité 0,2 µm) est utilisé pour clarifier et filtrer stérilement le surnageant. L'extrait enzymatique est ensuite conservé à 4°C.

L'activité des laccases est mesurée en suivant la cinétique d'oxydation de la syringaldazine (Harkin & Obst, 1973) en sa quinone à 525 nm ( $\epsilon^M = 65000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ). Le milieu réactionnel est composé de 1 mL d'extrait enzymatique, de 2 mL de tampon phosphate de sodium 0,1 M pH 5,7 et de 10 µL de syringaldazine 5 mM dissoute dans le méthanol. Les

résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche (U.g<sup>-1</sup> MS), une unité correspondant au nombre de µmoles de produit d'oxydation de la syringaldazine libéré par minute.

L'activité des peroxydases est mesurée en suivant l'oxydation du 2,7-diaminofluorène (Kaiho & Mizuno, 1985; Criquet *et al.*, 2001) à 600 nm ( $\epsilon^M = 10200 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ). Le milieu réactionnel est composé de 1 mL d'extrait enzymatique, de 2 mL de tampon phosphate 0,1 M pH 6, de 10 µL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 1,3 mM et de 10 µL de 2,7- diaminofluorène 6,9 mM. Les résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche (U.g<sup>-1</sup> MS), une unité correspondant au nombre de µmole de produit d'oxydation du 2,7- diaminofluorène libéré par minute.

### *1.1.2. Activité cellulase*

La méthode de mesure des activités cellulases est adaptée de celle de Miller *et al.* (1960). L'extrait enzymatique cellulase est réalisé à partir de 3 g de compost et 15 mL de tampon acétate 50 mM pH 5. Une agitation d'une heure sur table à agitation va et vient (120 oscillations/min) est suivie d'une centrifugation (10000 rpm, 10 mn). Un filtre stérile avec membrane en acétate de cellulose (Minisart 16534K, porosité 0,2 µm) est utilisé pour clarifier et filtrer stérilement le surnageant. L'extrait enzymatique est ensuite conservé à 4°C. L'activité des cellulases est mesurée en mélangeant 0,5 mL d'extrait enzymatique et 0,5 mL d'une solution de carboxyméthylcellulose (CMC) à 1 % dans un tampon acétate de sodium 50 mM, pH 6. Après une incubation d'une heure à 50°C, le glucose libéré est dosé selon la méthode de Miller *et al.* (1960) à l'aide une courbe étalon de glucose. Les résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche (U.g<sup>-1</sup> MS), une unité correspondant au nombre de µmole de glucose libéré par minute.

### *1.1.3. Activités phosphatases*

Les activités phosphatases sont mesurées de façon directe, *i.e.* sans extrait enzymatique, en utilisant comme substrat le *p*-nitrophénylphosphate (Eivazi & Tabatabai, 1977) dissous dans un tampon NaOH Glycine 0,1 M, pH 9 pour les phosphatases alcalines et dans un tampon acétate de sodium 0,1 M, pH 5 pour les phosphatases acides. L'activité enzymatique est mesurée à l'aide de 1 g de compost et 5 mL de tampon pH 5 ou pH 9 à 10 mM de *p*-nitrophénylphosphate. Après une incubation d'une heure à 37°C, 1 mL d'une solution de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M et 4 mL de solution NaOH 0,5 M sont ajoutés au milieu réactionnel.

L'activité enzymatique est ainsi stoppée. La lecture de la densité optique à 405 nm du *p*-nitrophénol libéré ( $\epsilon^M=1,9\times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) est effectuée près une centrifugation de 10 min à 10000 rpm. Les résultats sont exprimés en unité par gramme de matière sèche ( $\text{U.g}^{-1} \text{ MS}$ ), une unité correspondant au nombre de  $\mu\text{mole}$  de *p*-nitrophénol libéré par minute. Une gamme étalon de *p*-nitrophénol est réalisée dans chacun des deux tampons.

#### I.1.4. Activité protéase

La méthode de mesure des activités protéases est adaptée de celle de Chavira *et al.* (1984). L'extrait enzymatique protéase est réalisé à partir de 5 g de compost et 25 mL de tampon phosphate 50 mM pH 7,5. Agités 1 h à 120 oscillations/min, les échantillons sont ensuite centrifugés à 10000 rpm pendant 10 min. Un filtre stérile avec membrane en acétate de cellulose (Minisart 16534K, porosité 0,2  $\mu\text{m}$ ) est utilisé pour clarifier et filtrer stérilement le surnageant. L'extrait enzymatique est ensuite conservé à 4°C. L'activité protéase est mesurée en mélangeant 0,5 mL d'extrait enzymatique et 0,5 mL d'une solution d'Azocoll à 2,5  $\text{mg.mL}^{-1}$  dans un tampon phosphate 50 mM, pH 7,5. Après une incubation d'une heure à 37°C, 0,5 mL de TCA (acide trichloracétique) à 5 % est ajouté pour stopper la protéolyse. L'hydrolyse de l'Azocoll est suivie à 520 nm. Une courbe étalon, préparée à partir de Subtilisine pure, permet d'exprimer les activités en unité par gramme de matière sèche ( $\text{U.g}^{-1} \text{ MS}$ ), une unité correspondant à la quantité d'enzyme nécessaire pour libéré 1  $\mu\text{mol}$  d'acide aminé par minute.

#### II.3.3. Dénombrements microbiens

L'extraction des micro-organismes est effectuée à partir de 5 g de compost, 45 mL de tampon phosphate 0,1 M, pH 7 et 0,05 % de Tween 80. Le mélange est homogénéisé 30 min à 30°C. Des dilutions en série sont ensuite réalisées à partir d'eau physiologique stérile (NaCl 0,85 %). Pour le dénombrement de la microflore totale, les dilutions  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-6}$  sont utilisées pour ensemercer des milieux LPGA <sup>1</sup> sur boîte de Petri à partir de 0,1 mL de chaque dilution. Le dénombrement des actinomycètes est effectué à partir de 0,1 mL des dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  en utilisant le milieu de Pochon et Tardieux <sup>2</sup> et de 0,1 mL des dilutions  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  (20 min à 80 °C) en utilisant un milieu sélectif et après 10 min à 80°C pour les bactéries sporulées <sup>3</sup>. L'ensemencement pour le dénombrement de la microflore fongique est

réalisé en milieu Extrait de malt <sup>4</sup> liquide avec 1 mL de solution d'extraction à partir des dilutions 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> et 10<sup>-3</sup>. L'ensemble des boîtes est incubé à 30°C et les lectures sont réalisées à 24 h ou 48 h pour la microflore totale et les bactéries sporulées, 3 jours pour les champignons et 5 jours pour les actinomycètes.

<sup>1</sup> Milieu LPGA pour le dénombrement de la microflore totale :

- extrait de levure 5 g.L<sup>-1</sup>
- bacto peptone 5 g.L<sup>-1</sup>
- glucose 7,5 g.L<sup>-1</sup>
- agar 15 g.L<sup>-1</sup>
- stérilisation par autoclave 20 min à 120°C
- addition de 1 mL.L<sup>-1</sup> d'une solution d'amphotéricine B (250 µg.mL<sup>-1</sup>) stérilisée par filtration

<sup>2</sup> Milieu de Pochon et Tardieux pour le dénombrement des actinomycètes

- glycérol 2,5 g.L<sup>-1</sup>
- L.asparagine 0,25 g.L<sup>-1</sup>
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1 g.L<sup>-1</sup>
- Solution d'oligo-éléments\* 1 mL.L<sup>-1</sup>
- agar 15 g.L<sup>-1</sup>
- stérilisation par autoclave 20 min à 120°C
- addition de 1 mL.L<sup>-1</sup> d'une solution de bichromate de potassium à 0,1% stérilisée par filtration 20 mL.L<sup>-1</sup>

-\*solution d'oligo-éléments :

- molybdate de sodium 50 mg.L<sup>-1</sup>
- borate de sodium 50 mg.L<sup>-1</sup>
- nitrate de cobalt 50 mg.L<sup>-1</sup>
- sulfate de cadmium 50 mg.L<sup>-1</sup>
- sulfate de zinc 50 mg.L<sup>-1</sup>
- sulfate de manganèse 50 mg.L<sup>-1</sup>
- perchlorure de fer 1 goutte

<sup>3</sup> Milieu pour le dénombrement des bactéries sporulées :

- Nutrient-agar milieu déshydraté 32 g.L<sup>-1</sup>
- stérilisation par autoclave 20 min à 120°C
- addition de 1 mL.L<sup>-1</sup> d'une solution d'amphotéricine B (250 µg.mL<sup>-1</sup>) stérilisée par filtration

<sup>4</sup> Milieu malt pour le dénombrement fongique :

- extrait de malt 20 g.L<sup>-1</sup>
- agar 20 g.L<sup>-1</sup>
- stérilisation par autoclave 20 min à 120°C
- addition du mélange suivant (1 mL.L<sup>-1</sup>) stérilisé par filtration :
  - acide citrique 250 mg.L<sup>-1</sup>
  - tétracycline 50 mg.L<sup>-1</sup>
  - streptomycine 100 mg.L<sup>-1</sup>

### II.3.4. Profils métaboliques bactériens et fongiques (Biolog®)

L'étude des communautés microbiennes a été réalisée grâce au système en microplaques Biolog® EcoPlate pour les profils métaboliques bactériens et Biolog® FF pour les profils métaboliques fongiques. Les microplaques Biolog EcoPlates ont été conçues pour des études d'écologie bactérienne et comprennent 31 substrats spécialement ciblés vers des applications environnementales (Preston-Mafham *et al.*, 2002). Les EcoPlates contiennent un indicateur redox coloré, le tétrazolium violet, dont la coloration pourpre est produite par sa réduction en formazan lors de la croissance bactérienne et n'est pas réduit par la croissance des champignons (Grove *et al.*, 2004). La diversité fongique est étudiée grâce aux microplaques FF qui contiennent 95 sources de carbone, une combinaison d'antibiotiques n'affectant pas la croissance fongique et un indicateur redox coloré, le iodonitrotétrazolium violet (INT), réduit par la croissance des champignons (Preston-Mafham *et al.*, 2002). Une extraction commune est nécessaire pour les deux analyses. Une partie aliquote de 7,5 g (masse sèche) de compost et 75 mL d'une solution à 0,1 % de pyrophosphate de sodium stérile sont mélangés dans un Erlenmeyer de 150 mL. L'agitation (300 rpm) est effectuée pendant 20 minutes à l'aide d'une vingtaine de billes de verre (diamètre de 4 mm). Trois dilutions au 1/10 dans une solution saline (NaCl 0,85%) stérile sont effectuées consécutivement avant l'inoculation de chaque puits de la microplaque (Eco ou FF) avec 125  $\mu\text{L}$  de la suspension diluée  $10^{-3}$ . Les microplaques sont incubées à 25°C. Les lectures à 405 nm sont effectuées par un lecteur de microplaque (Metertech  $\Sigma$  960) jusqu'à ce que la moyenne de l'ensemble des valeurs de densité optique de chacun des puits (témoin soustrait) appelé AWCD (Average Well Color Development) soit supérieure à 1 ou n'augmente plus.

Le protocole général d'analyses physiques, chimiques et biologiques est schématisé dans la Figure 31.



## II.4. Analyses statistiques

### II.4.1. Analyse de variance

Les tests de comparaison de moyennes (ANOVA) ont été effectués à l'aide du logiciel Statistica (Microsoft). Une hypothèse importante dans l'analyse de la variance est que les variances dans les différents groupes sont homogènes. Le test de Levene (homogénéité des variances) est effectué pour chaque analyse de variance et chaque variable dépendante. Une analyse de variance est réalisée sur les écarts absolus des valeurs aux moyennes des groupes respectifs. Si le test de Levene est statistiquement significatif, l'hypothèse d'homogénéité des variances doit être rejetée et le test U ou test de Wilcoxon-Mann-Whitney est utilisé. Ce test est la version non paramétrique de l'ANOVA.

### II.4.2. Corrélation linéaire (coefficient r de Pearson)

Les tests de corrélations entre variables ont été effectués à l'aide du logiciel Statistica 6.0. La corrélation mesure la relation entre deux variables ou plus. Le coefficient de corrélation utilisé est le coefficient r de Pearson, également appelé coefficient de corrélation linéaire. Les coefficients de corrélation sont compris dans l'intervalle -1,00 à +1,00. Les valeurs -1,00 et +1,00 représentent une parfaite corrélation négative ou positive et la valeur 0,00 représente une absence de corrélation ou l'indépendance entre les variables.

### II.4.3. Analyses multivariées

#### - Classification ou analyse en clusters

L'analyse en clusters permet de découper un jeu de données en sous groupes homogènes d'individus ou de variables. Parmi les méthodes d'analyse en clusters, la classification hiérarchique ascendante permet de regrouper des individus ou des variables par ordre de proximité croissante. La méthode de mesure des distances utilisée a été celle des distances euclidiennes représentant les distances géométriques à l'intérieur de l'espace multidimensionnel (Falissard, 1996). La méthode d'agrégation utilisée est la méthode de Ward qui emploie une approche par analyse de la variance pour évaluer les distances entre les clusters. Les analyses en clusters ont été effectués à l'aide du logiciel Statistica 6.0.

#### - Analyse en composante principale

Une des méthodes d'analyse factorielle est l'analyse en composante principale (ACP). Cette analyse traite de tableaux croisant les individus (échantillons) et les variables numériques qui caractérisent ces individus. Elle permet d'effectuer la synthèse de l'information contenue dans un grand nombre de variables grâce à l'obtention de « composantes principales » : nouvelles variables, indépendantes, combinaisons linéaires des variables initiales possédant une variance maximale. Les composantes principales autorisent la représentation graphique de grands tableaux de données trop complexes à décrire par les méthodes graphiques habituelles. Il est possible d'y observer, au sens propre du terme, des regroupements, des oppositions, des tendances directionnelles, impossible à discerner sur un grand tableau de nombres même après un examen prolongé (Falissard, 1996). Les ACP ont été effectués à l'aide du logiciel Statistica 6.0.

#### - Analyse canonique de redondance (RDA)

L'analyse canonique de redondance (redundancy analysis : RDA) met en rapport deux matrices: une matrice dépendante et une matrice explicative. Toutes les deux sont impliquées dans l'étape d'ordination. Cette approche est appelée analyse directe de gradient car les données utilisées visent à démontrer le rôle d'une variable particulière sur les gradients, contrairement à une analyse indirecte de gradient, par exemple l'ACP, dans laquelle le plan d'échantillonnage cherche à expliquer au mieux les gradients obtenus avec des variables disponibles. Les RDA ont été effectués à l'aide du logiciel Canoco 4.5.

#### - Méthode des moindres carrés partiels (PLS)

La méthode des moindres carrés partiels (Partiel Least Square : PLS) est utilisée pour ajuster un modèle statistique reliant des variables explicatives X à des variables à expliquer Y. Cette procédure est principalement utile lorsqu'il y a de nombreuses variables prédictives et que le but premier est de prévoir les variables de réponse. A la différence des autres procédures de régression, des estimations peuvent être calculées même si le nombre de variables prédictives est plus grand que le nombre d'observations. La régression PLS est largement utilisée dans le cadre de chimiométrie en étalonnage spectrométrique et notamment pour la spectroscopie proche infrarouge.

Le but principal de la PLS est de construire un modèle linéaire,  $Y=XB+E$ , où  $Y$  est une matrice de  $n$  observations par  $m$  variables de réponse,  $X$  est une matrice de  $n$  observations par  $p$  variables prédictives,  $B$  est une matrice de coefficients de régression  $p$  par  $m$  et  $E$  est le terme d'erreur du modèle de même dimension que  $Y$ . En effet, la PLS est une extension de la régression linéaire multiple. Sous sa forme la plus simple, un modèle linéaire exprime la relation linéaire entre une variable dépendante (réponse)  $Y$ , et un ensemble de variables prédictives  $X$ , telle que :  $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_pX_p$ . Dans cette équation,  $b_0$  est l'ordonnée à l'origine ou la constante, et les valeurs  $b_i$  sont les coefficients de régressions (pour les variables 1 à  $p$ ) calculés à partir des données. Une étape très importante dans l'ajustement du modèle dans un but prédictif est de vérifier les résultats (validation croisée), c'est-à-dire d'appliquer le modèle considéré sur un ensemble de données n'ayant pas servi à établir ce modèle (*i.e.* à estimer les paramètres). Cette méthode permet de tester la robustesse des modèles de prédiction. Pour estimer les performances de prédiction d'un modèle, les termes statistiques les plus intéressants sont le coefficient de régression linéaire  $R^2$  entre les valeurs prédites calculées par le modèle et les valeurs réelles, l'erreur standard (standard deviation : SD), l'erreur standard de validation croisée (standard error of cross validation: SECV), l'erreur standard de calibration (standard error of calibration : SEC) et le pourcentage de variance expliqué par l'équation. Les modèles PLS ont été construits grâce au logiciel ISI software system.

# *Chapitre III.*

## *Mécanismes physico- chimiques du compostage*

---

*Ce chapitre présente l'évolution des paramètres physico-chimiques au cours du compostage de déchets verts et de boues de station d'épuration. Il fait état des relations établies entre des paramètres classiques tels que température, humidité, pH, carbone, azote, rapport C/N, teneurs en matières organiques, en acides humiques et fulviques et les caractéristiques du composts en spectroscopie UV - visible et la Résonance Magnétique Nucléaire  $^{13}\text{C}$  du solide.*

### III.1. Décomposition et minéralisation

Une étude de l'évolution de six paramètres chimiques conventionnels : humidité, pH, C, N, C/N et teneur en MO a été effectuée à partir des composts de la campagne B (146 jours de maturation). Les résultats sont présentés dans le Tableau 5. Une étude de l'évolution de la température et de l'humidité à partir des composts de la campagne C (180 jours de maturation) a également été effectuée. Les résultats sont présentés dans la Figure 32.

**Tableau 5** : Paramètres chimiques mesurés pendant 146 jours de compostage (campagne B)

Temps (jour)	Humidité (%)	pH	N (%)	C (%)	C / N	MO (%)
4	53,1 (0,1)	6,8 (0,1)	1,6 (0,1)	27,7 (1,6)	17,7 (1,0)	58,5 (3,0)
18	39,3 (0,3)	6,8 (0,1)	1,8 (0,1)	27,8 (0,3)	15,3 (0,9)	57,5 (3,6)
31	49,4 (0,1)	6,9 (0,1)	1,9 (0,2)	28,9 (0,8)	15,5 (1,7)	57,0 (3,0)
40	17,9 (1,1)	7,2 (0,1)	2,4 (0,1)	28,3 (1,6)	11,6 (0,7)	60,3 (3,0)
57	21,4 (0,1)	7,3 (0,1)	1,7 (0,2)	24,1 (2,5)	14,1 (0,5)	48,3 (2,1)
67	28,5 (0,1)	7,2 (0,1)	1,9 (0,1)	27,6 (1,9)	14,2 (1,4)	53,5 (5,9)
84	18,6 (0,3)	7,7 (0,1)	1,7 (0,1)	24,0 (3,0)	13,8 (1,2)	47,0 (4,6)
101	13,6 (0,1)	7,5 (0,1)	2,1 (0,1)	26,1 (1,4)	12,7 (0,5)	52,6 (2,7)
114	15,6 (0,2)	7,4 (0,1)	2,0 (0,1)	24,9 (1,2)	12,7 (0,1)	50,8 (4,1)
128	21,4 (0,1)	7,8 (0,1)	1,9 (0,2)	25,3 (1,7)	13,1 (0,6)	50,5 (4,3)
146	10,8 (0,1)	7,8 (0,1)	1,9 (0,1)	23,7 (1,0)	12,4 (0,3)	48,9 (2,2)

Les valeurs entre parenthèses sont les écartypes ( $n = 4$ ).

Un test d'analyse de variance de Wilcoxon-Mann-Whitney a été effectué pour l'ensemble des paramètres étudiés. Les résultats sont présentés dans le Tableau 6. Des différences significatives entre 4 et 146 jours ont été calculées pour les paramètres suivants humidité, pH, C, N, C/N et MO ( $p < 0,05$ ).

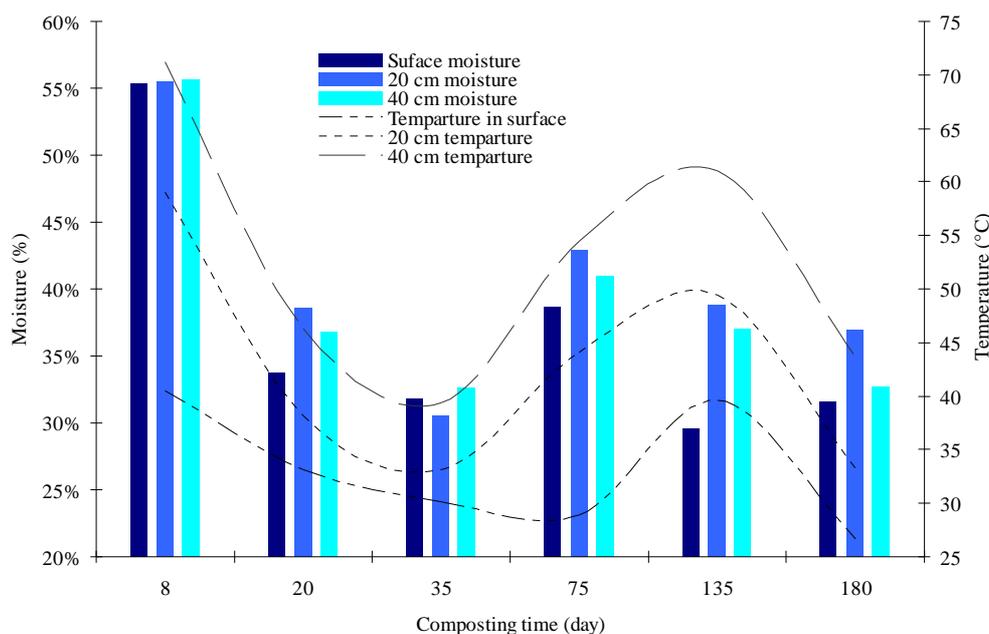
**Tableau 6** : Résultats de l'analyse de variances pour N, C, C/N, matière organique, pH et Humidité par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney

Paramètre	Niveau de $p$
Humidité	0,014
pH	0,049
N	0,034
C	0,034
C/N	0,034
MO	0,034

### III.1.1. Humidité et température

Avec une humidité, pour le mélange initial, comprise entre 40 et 55 %, la teneur en eau reste élevée pendant le premier mois de la campagne de compostage B. Celle-ci diminue ensuite très fortement pour atteindre 10,8 % après 146 jours (Tableau 5). Les composts de la campagne de prélèvements C, utilisés pour l'établissement d'une base de données à partir de 432 composts d'andains (Chapitre V), ont subi des mesures de température et d'humidité (Figure 32). De même que lors de la campagne B, l'humidité diminue fortement de 55 % à 30 - 40 % après 180 jours. Canet & Pomares (1995) ont mesuré de semblables chutes de l'humidité de 60 à 21 % en 90 jours de compostage, selon Francou (2003), une partie de l'énergie calorifique dégagée lors du processus de compostage provoque cette évaporation de l'eau entraînant un assèchement des matières. En effet, les températures des composts analysés (campagne C) présentent un maximum de 54 à 72 °C à 8 jours, puis diminuent jusqu'à 180 jours pour atteindre 30 à 40°C (Figure 32). Jimenez & Garcia (1989) ont montré également que la température dans un compost en andain augmente pendant les premiers jours, jusqu'à 60 ou 70°C, puis diminue graduellement pour atteindre une température constante. En conséquence, ces auteurs ont affirmé que la température pouvait être considérée comme un bon indicateur de la fin de la phase bio-oxydante, ce qui est en accord avec les observations de Finstein & Morris (1975) et De Bertoldi *et al.* (1983). Pour Charnay (2005), le suivi de la température est une mesure indirecte de l'intensité des dégradations, les dégradations les plus intenses situées pendant le premier mois de compostage.

Il est aussi à noter que les températures sont plus élevées à l'intérieur de l'andain qu'en surface avec des différences de 10 à 15°C (Figure 32). De même, l'humidité, initialement identique dans le mélange, diminue plus fortement en surface. Ceci peut s'expliquer par de plus importants échanges gazeux et thermiques avec l'extérieur à la surface de l'andain.



**Figure 32** : Température et humidité mesurées pendant 180 jours de compostage (campagne C)

### III.1.2. Evolution du pH

Pour Jimenez & Garcia (1991), le pH est un bon indicateur de l'état de progression du compostage de boues de station d'épuration ou de déchets domestiques. Le pH des composts de la campagne B présente une augmentation significative ( $p < 0,05$ ) de 6,8 à 7,8 pendant le processus de compostage (Tableau 5). Jimenez & Garcia (1991) ont rapporté une augmentation graduelle du pH du même ordre de grandeur, *i.e.* de 7 à 8, pendant le compostage. Dans une autre domaine, les déchets ménagers organiques présentent des pH initiaux, variant de 4,5 à 6 (Sundberg *et al.*, 2004), cette acidité étant due à la présence d'acides organiques à chaînes courtes principalement acide acétique et lactique (Beck-Friis *et al.*, 2001). Selon Sundberg *et al.* (2004), dans un processus complet et réussi de compostage de biodéchets, le pH augmente pour atteindre des valeurs de 8 à 9. De manière analogue, les boues de stations d'épuration contiennent une part importante de lipides (Reveille *et al.*, 2003) expliquant leurs faibles pH initiaux. La disparition des acides gras pourrait ainsi expliquer l'augmentation du pH pendant le compostage. Cayuela *et al.* (2006) ont également observé une augmentation similaire du pH (7 à 9) pendant le compostage de déchets de l'industrie de l'olive. Or, les déchets d'olives contiennent une part importante de lipides et d'acides organiques libres (Cayuela *et al.*, 2006). Tang *et al.* (2004) ont fait l'hypothèse que les ions ammonium  $\text{NH}_4^+$  libérés pendant le processus contribueraient aussi à l'augmentation du pH.

Notons également qu'aucune acidification ne s'est produite en début de compostage pour les composts de la campagne B. Cette constatation est intéressante, car ce phénomène est assimilé à une production d'acide due à une oxydation incomplète, signe d'une mauvaise oxygénation comme le soulignent Francou (2003) et Sundberg *et al.* (2004).

### III.1.3. Matière organique (MO) et analyses élémentaires

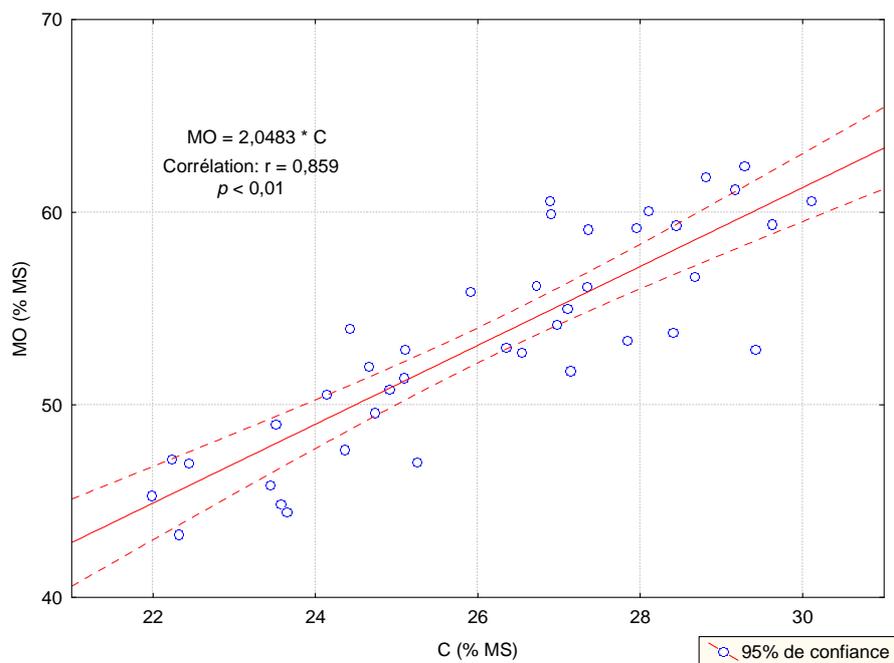
Les taux de matières organiques, mesurés à partir du taux de cendres après calcination, diminuent au cours du compostage, passant de 58,5 % après 4 jours à 48,9 % de la matière sèche à la fin du processus (Tableau 5). Le carbone organique C diminue également en passant de 27,7 % à 23,7 % en 146 jours de compostage. Ces tendances ne sont pas linéaires, mais présentent deux périodes distinctes. Une première phase est comprise entre 4 et 57 jours pendant laquelle MO et C affichent de fortes diminutions passant respectivement de 58,5 à 48,3 % et de 27,7 à 23,7 % de la matière sèche. La seconde phase, entre 57 et 146 jours, présente une stabilisation de MO et C avec respectivement 23,7 et 48,9 % de la matière sèche. Ces diminutions de MO et C sont caractéristiques de la dégradation des matières organiques. En effet, de semblables diminutions, pendant le compostage, ont souvent été rapportées et assimilées à la minéralisation des matières organiques par les micro-organismes (Bernal *et al.*, 1998; Laos *et al.*, 2002; Grigatti *et al.*, 2004).

Dans le cas de composts de boues et déchets verts, Mena *et al.* (2003), Huang *et al.* (2004) et Hernandez *et al.* (2006) ont attribué la diminution du taux de matières organiques à une minéralisation microbienne de la matière organique des boues, étant donné la nature ligno-cellulosique des déchets verts qui sont dégradés beaucoup plus lentement. Hernandez *et al.* (2006) ont effectivement montré qu'une augmentation de la proportion de boues dans le mélange initial boues - déchets verts, intensifie la minéralisation. Dans le cas de cette étude, la première phase de diminution des matières organiques peut être attribuée à une importante dégradation et à une minéralisation des matières organiques entre 4 et 57 jours alors que la seconde phase, caractérisée par une stabilisation de ces deux paramètres, indique, au contraire, un ralentissement de la minéralisation et le début de la phase de maturation.

L'azote organique présente une augmentation entre 4 et 146 jours avec respectivement 1,6 et 1,9 % de la matière sèche (Tableau 5). Cet effet est dû à sa concentration, engendrée par la forte dégradation des composés carbonés réduisant la masse totale de compost (Bernal *et al.*, 1998). N rapporté à la masse sèche du mélange initial diminue au cours du compostage

comme l'a rapporté Francou (2003). Du fait de cette concentration de l'azote et de la minéralisation du carbone, le rapport C/N diminue au cours du compostage, avec des valeurs comprises entre 17,7 et 12,4. Comme l'indiquent plusieurs études (Hsu & Lo, 1999; Baddi *et al.*, 2004), cette diminution est liée au degré de maturité. Huang *et al.* (2006) ont rapporté que les modifications du rapport C/N reflètent la décomposition et la stabilisation des matières organiques. De plus, le C/N présente la même tendance que C et MO avec deux phases distinctes. Les 40 premiers jours sont caractérisés par une diminution brutale du rapport C/N de 17,7 à 11,6, traduisant une décomposition soutenue de la matière organique. Le reste du processus se distingue par une phase de stabilisation, traduisant un ralentissement de la minéralisation et indiquant le début de la phase de maturation.

Par ailleurs, le rapport matière organique / carbone organique a été calculé pour les 44 composts de la campagne B et les résultats sont présentés par la Figure 33. Pour Nelson & Sommers (1996), une valeur de 1,724 est communément acceptée pour ce rapport, mais différentes études ont permis de conclure que ce rapport est sous estimé. Notre étude propose un rapport de 2,05, c'est-à-dire proche du rapport donné par Francou (2003) pour le compost (1,93) et Nelson & Sommers (1996) qui recommandent un rapport matière organique / carbone organique de 2 comme étant le plus universellement acceptable pour estimer l'un ou l'autre des paramètres de ce rapport.



**Figure 33** : Rapport entre les teneurs en matière organique (MO) et en carbone (C) pour les composts de la campagne B

## III.2. Humification

Les paramètres chimiques classiques décrits ci-dessus ne pouvant nous éclairer sur les modifications subies par la matière organique pendant la seconde phase du procédé, phase de stabilisation et de ralentissement de la minéralisation, d'autres analyses chimiques et spectroscopiques ont été développées telles qu'un fractionnement chimique de la lignine, des acides humiques et fulviques ainsi que la spectroscopie UV – visible.

### III.2.1. Fractionnement humique

Le fractionnement chimique des acides humiques et fulviques a permis de suivre l'évolution de l'humification des matières organiques pendant le compostage. Les résultats de ces analyses, pour les composts des campagnes A et B, sont présentés par le Tableau 7.

**Tableau 7** : Extraction des acides humiques (AH) et fulviques (AF) pour les campagnes A et B

Compost A				Compost B			
Temps (jour)	AH % MS	AF % MS	AH/AF	Temps (jour)	AH % MS	AF % MS	AH/AF
1	3,9 (0,2)	6,7 (0,1)	0,53 (0,06)	4	2,8 (0,8)	5,4 (0,7)	0,53 (0,18)
27	3,5 (1,1)	6,1 (0,1)	0,58 (0,25)	18	2,8 (0,2)	5,2 (0,9)	0,56 (0,15)
41	4,4 (0,7)	5,7 (0,1)	0,78 (0,13)	31	2,3 (0,8)	5,2 (0,5)	0,43 (0,10)
57	3,2 (0,6)	4,6 (0,2)	0,70 (0,11)	40	3,1 (0,5)	5,2 (0,6)	0,61 (0,15)
69	4,4 (0,5)	4,9 (0,5)	0,91 (0,01)	57	3,9 (0,2)	3,8 (0,4)	1,03 (0,83)
82	6,8 (0,2)	6,8 (0,2)	1,00 (0,02)	67	2,7 (0,8)	4,8 (0,7)	0,56 (0,19)
88	6,6 (1,1)	5,3 (0,5)	1,24 (0,21)	84	3,7 (0,9)	3,4 (0,7)	1,15 (0,40)
116	7,1 (0,1)	6,2 (0,4)	1,14 (0,06)	101	5,3 (0,5)	4,7 (0,5)	1,15 (0,20)
131	7,6 (0,4)	7,4 (0,2)	1,03 (0,08)	114	6,0 (0,8)	4,8 (0,4)	1,24 (0,08)
145	6,0 (0,4)	5,0 (0,7)	1,19 (0,14)	128	5,2 (0,5)	4,7 (0,4)	1,10 (0,15)
159	7,0 (0,3)	7,3 (0,4)	0,96 (0,02)	146	6,4 (0,4)	4,0 (0,1)	1,60 (0,08)
174	5,8 (0,1)	5,0 (0,5)	1,16 (0,10)				
193	9,9 (0,6)	7,1 (0,2)	1,38 (0,11)				

Les valeurs entre parenthèses sont les écartypes ( $n_A = 3$ ,  $n_B = 4$ )

Un test d'analyse de variance (Wilcoxon-Mann-Whitney) a été effectué sur les analyses de fractionnements chimiques. Les résultats (Tableau 8) présentent des différences significatives pour chacun des paramètres entre le début et la fin du compostage ( $p < 0,05$ ) sauf pour AF de la campagne A.

**Tableau 8** : Analyse des variances de AH, AF et du rapport AH / AF par le test de Wilcoxon-Mann-Whitney

Paramètre	Niveau de $p$	
	Compost A	Compost B
AH	0,034	0,034
AF	0,157	0,034
AH/AF	0,034	0,034

Les substances humiques constituent la fraction principale de la matière organique en raison de leur effet sur l'écologie des sols, sur la structure, la fertilité, et la croissance de plantes (Huang *et al.*, 2006). Une grande partie des matières organiques présentes dans le mélange initial est minéralisée pendant le compostage, mais les matières organiques résiduelles sont transformées en nouvelles matières organiques, telles que les substances humiques produites par les processus d'humification (Campitelli *et al.*, 2006).

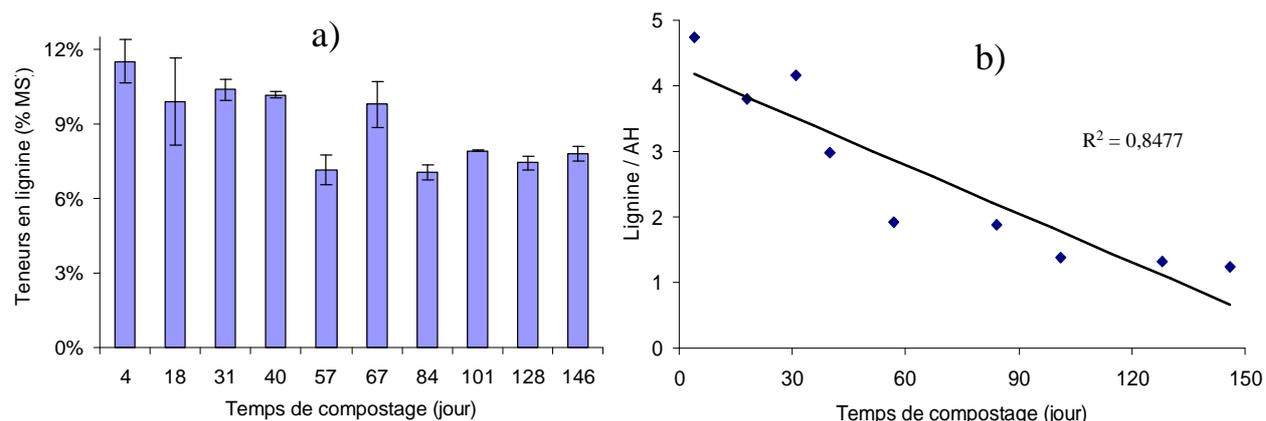
Les teneurs en acides humiques augmentent pour les deux campagnes de compostage avec des valeurs de 3,9 à 9,9 % MS pour A et de 2,8 à 6,4 % MS pour les composts B. A l'inverse, les teneurs en acides fulviques varient, sans tendance claire, avec des valeurs de 6,7 et 7,1 % MS entre 1 et 193 jours de compostage pour la campagne A et diminuent dans le cas des composts de la campagne B avec 5,4 et 4 % MS à respectivement 4 et 146 jours. La conséquence de ces deux tendances est une forte augmentation du rapport AH/AF, dans les deux cas, avec une augmentation de 0,53 à 1,38 pour A et 0,53 à 1,6 pour les composts de la campagne B en 146 jours.

Plusieurs études ont montré que l'augmentation de AH est un indicateur du degré d'humification des matières organiques et donc du degré de maturité des composts (Veeken *et al.*, 2000; Huang *et al.*, 2006). Huang *et al.* (2006) ont aussi expliqué que l'humification des matières organiques se produit principalement à travers la fraction AH et peu à travers la fraction AF. Ainsi, le rapport AH/AF a souvent été proposé comme indicateur des processus d'humification et comme indice de maturité (Sanchez-Monedero *et al.*, 1999, Tomati *et al.*, 2000). Pour Jouraiphy *et al.* (2005), l'augmentation du rapport AH/AF provient de la formation d'AH par la polymérisation d'AF ou par la dégradation de substances non humiques de la fraction AF, suivie par la formation de structures humiques polycondensées AH.

Cependant, la mesure de la fraction AH ne peut pas être employée seule comme indice de maturité. Certains auteurs tels que Veeken *et al.* (2000) ont préconisé l'utilisation complémentaire d'autres techniques analytiques telles que la RMN  $^{13}\text{C}$ .

### III.2.2. Fractionnement chimique de la lignine

Le fractionnement chimique de la lignine a été adapté de la méthode de Quoc Lam *et al.*, (2001) permettant d'isoler la lignine des autres polymères organiques contenue dans les déchets verts (cellulose et hémicelluloses). Les extractions ont été réalisées sur 20 composts de la campagne de prélèvements B et les résultats sont présentés sur la Figure 34a. La teneur en lignine présente une diminution significative (Wilcoxon-Mann-Whitney :  $p < 0,001$ ) pendant le temps de compostage avec des valeurs de 11,5 à 7,8 % MS entre 4 et 146 jours. Cette diminution a été corrélée à l'augmentation des acides humiques grâce au calcul du rapport lignine / acide humique dont les résultats sont présentés par la Figure 34b. Ce rapport présente une corrélation significative avec une  $R^2$  de 0,8477. Ces résultats semblent signifier que les processus d'humification, au cœur de la stabilisation des matières organiques lors du compostage, correspondent en partie à une transformation de la lignine en acides humiques.

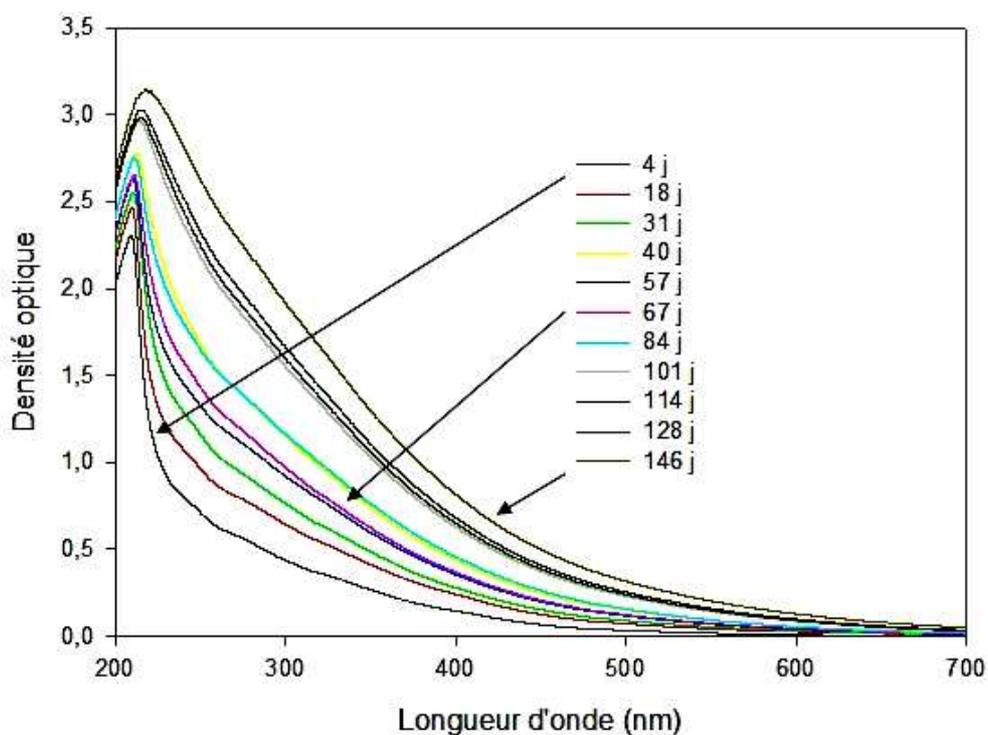


**Figure 34 :** a) Evolution des teneurs en lignine dans 20 composts de la campagne B, b) Corrélation significative entre le rapport lignine / AH et le temps de compostage

### III.2.3. Spectroscopie UV – visible

La spectroscopie UV - visible est une technique utilisée par de nombreux auteurs pour caractériser les substances humiques (Swift, 1996; Thomsen *et al.*, 2002; Domeizel *et al.*, 2004; Zbytniewski & Buszewski, 2005). L'absorption des radiations électromagnétiques dans les régions UV (200 - 400 nm) et visible (400 - 800 nm) est associée à des transitions électroniques dues à l'excitation d'un électron d'une orbitale stable vers une orbitale instable. Dans les composés organiques, ces transitions électroniques correspondent à des changements

d'orbitales moléculaires de groupes fonctionnels spécifiques (chromophores). Ainsi, les spectres d'absorption d'un composé peuvent être utilisés pour son identification. Pour Roberts & Caserio (1968), la transition d'un électron d'un état fondamental à un état électronique excité est accompagnée de variations vibrationnelles et rotationnelles au sein de la molécule, rendant ainsi les absorptions dues aux excitations électroniques, relativement larges et donnant des spectres de bandes et non des spectres de raies. Les substances humiques présentent ainsi des pics d'absorption relativement larges, ce qui empêche l'identification d'un composé particulier au sein d'un mélange complexe. Pour Swift (1996), les spectres d'absorption des substances humiques ressemblent à une « courbe lissée » consistant en une augmentation de l'absorption corrélée à la diminution des longueurs d'onde. Les spectres présentés sur la Figure 35 et effectués à partir des composés de la campagne B, correspondent entièrement à la description de Swift (1996). L'allure de ces spectres est expliquée par le fait que ceux-ci correspondent à la somme de nombreux chromophores.



**Figure 35** : Spectre UV – visible de 11 composés de maturité différente (campagne B)

En dépit de cet apparent manque d'informations, de légères variations d'absorption correspondant à des fractions de substances humiques, peuvent être mesurées. Swift (1996) a rapporté que Kononova (1966), Chen *et al.* (1977) et Stevenson (1994) ont utilisé  $Q_4/Q_6$ , comme indice d'humification, dans le cadre de l'étude d'un échantillon de substances

humiques, avec un rapport inférieur à 5 assigné aux acides humiques et supérieur à 5 pour les acides fulviques. Suivant le même principe, Zbytniewski & Buszewski (2005) ont relevé trois régions principales à l'intérieur des spectres d'extraits alcalins de composts. La région 260 - 280 nm correspond à la lignine et aux quinones, *i.e.* les matières en début de transformation. Les absorbances entre 460 et 480 nm répondent aux matières organiques en début d'humification et la région 600 - 670 nm correspond à des matières fortement humifiées et condensées avec d'abondants groupes aromatiques. Ces rapports ont été calculés pour les composts de la campagne B et les résultats sont exprimés dans le Tableau 9. Les diminutions des rapports  $Q_2/Q_6$  et  $Q_4/Q_6$  entre 4 et 146 jours montrent une augmentation des matières organiques fortement humifiées au sein du compost et révèlent donc clairement l'humification des matières organiques.

**Tableau 9** : Absorbances UV - visible d'extraits alcalins de 11 composts de maturités différentes (campagne B)

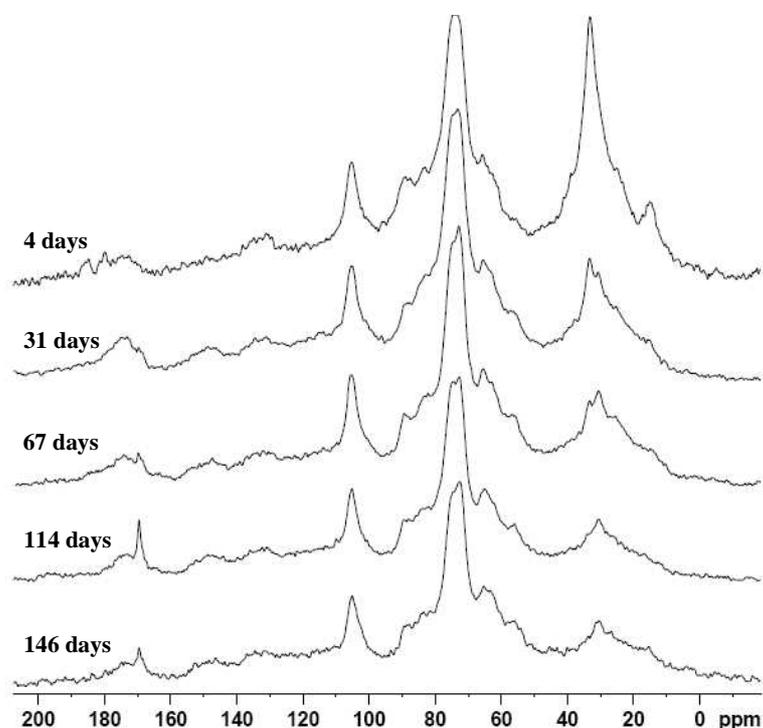
Temps (jour)	Abs <sub>280 nm</sub>	Abs <sub>285 nm</sub>	Abs <sub>472 nm</sub>	Abs <sub>664 nm</sub>	$Q_2/Q_6$	$Q_4/Q_6$	$Q_2/Q_4$
4	0,538	0,539	0,046	0,002	275,4	23,4	11,8
18	0,761	0,762	0,094	0,014	55,7	6,9	8,1
31	0,900	0,900	0,117	0,016	57,0	7,4	7,7
40	1,343	1,343	0,195	0,027	50,1	7,3	6,9
57	1,071	1,072	0,155	0,018	58,4	8,4	6,9
67	1,140	1,140	0,161	0,019	59,2	8,4	7,1
84	1,343	1,344	0,206	0,025	53,6	8,2	6,5
101	1,786	1,786	0,298	0,045	40,0	6,7	6,0
114	1,907	1,907	0,328	0,050	37,9	6,5	5,8
128	1,833	1,833	0,310	0,044	41,5	7,0	5,9
146	2,179	2,179	0,404	0,070	31,1	5,8	5,4

Selon Chin *et al.* (1994), l'absorbance à 285 nm est une mesure approximative du degré d'aromaticité des matières organiques dissoutes et, selon Senesi *et al.* (1989), l'humification est décrite par le degré de polycondensation des structures aromatiques. Dans cette optique, Kalbitz (2001) a utilisé l'absorption à 285 nm des matières organiques dissoutes pour estimer le degré d'humification d'un sol en fonction de sa profondeur. Cet auteur a assimilé une augmentation de l'absorbance à une plus importante humification. Ceci se vérifie pour les matières organiques dissoutes de compost avec une augmentation de l'absorbance à 285 nm de 0,539 à 2,179 entre 4 à 146 jours de compostage et donc suivant la progression de la maturité.

## III.3. Caractérisation par Résonance Magnétique Nucléaire

### III.3.1. Caractérisations des mécanismes du compostage

Les méthodes utilisées précédemment pour caractériser les processus de minéralisation et d'humification des matières organiques donnent de précieuses indications sur leur état d'évolution. Ces techniques ont leurs limites et la Résonance Magnétique Nucléaire (RMN)  $^{13}\text{C}$  du solide est une technique spectroscopique puissante permettant d'étudier l'état de la matière organique plus profondément (Kogel-Knabner, 1997). Cette technique a connu son essor avec la mise au point des techniques de polarisation croisée (CPMAS) et de rotation à l'angle magique (angle de  $54,7^\circ$  par rapport au champ magnétique statique) permettant de résoudre les spectres RMN beaucoup plus précisément. La caractérisation de la structure carbonée des 44 composts de la campagne d'échantillonnage B a été effectuée par RMN  $^{13}\text{C}$  dans le but d'approfondir la connaissance des mécanismes impliqués dans le processus de compostage. Un exemple de l'évolution de ces spectres à travers le temps de compostage est représenté par la Figure 36.



**Figure 36** : Spectres RMN solide du  $^{13}\text{C}$  de composts de la campagne B en fonction du temps de compostage

La déconvolution des 44 spectres RMN de composts, effectuée grâce au logiciel DmFit (Massiot *et al.*, 2002), a généré 32 pics correspondant à des conformations différentes du carbone. L'intégration de ces pics a permis de calculer la contribution de chaque type de carbone. Les résonances exprimées en déplacements chimiques (ppm) ont été assignées à des structures chimiques grâce à plusieurs études sur les matières organiques des composts et des sols (Inbar *et al.*, 1991; Vineslas-Akpa & Loquet, 1997; Almendros *et al.*, 2000). Ainsi, les déplacements chimiques de RMN sont attribués à des groupes chimiques : C<sub>alkyle</sub> (0-45 ppm), C<sub>O-alkyle</sub> (45-110 ppm), C<sub>aromatique</sub> (110-145 ppm), C<sub>phénolique</sub> (145-165 ppm) et C<sub>carbonyle & carboxyle</sub> (165-210 ppm). Les résultats sont présentés par le Tableau 10

**Tableau 10** : Valeurs des groupements carbonés définis selon Inbar *et al.* (1991), Vineslas-Akpa & Loquet (1997) et Almendros *et al.* (2000) à partir des intégrations des 44 spectres RMN des composts de la campagne B

Temps (jour)	C carbonyle & carboxyle 165-210 ppm	C phénolique 145-165 ppm	C aromatique 110-145 ppm	C O-alkyle 45-110 ppm	C alkyle 0-45 ppm
4	8,3 (1,4)	4,3 (0,4)	10,2 (1,1)	54,8 (1,7)	22,4 (1,2)
18	8,3 (1,1)	4,3 (0,3)	9,8 (0,7)	58,7 (2,0)	19,0 (1,0)
31	7,8 (0,6)	3,9 (0,3)	9,4 (0,4)	56,6 (1,2)	22,2 (1,7)
40	8,1 (0,9)	4,1 (0,2)	10,2 (0,7)	57,9 (1,0)	19,8 (1,0)
57	8,7 (0,5)	4,6 (0,3)	10,8 (0,4)	54,9 (0,7)	21,0 (1,1)
67	8,4 (1,8)	4,3 (0,7)	10,0 (1,1)	57,6 (1,8)	19,7 (1,8)
84	8,7 (0,6)	4,9 (0,5)	11,1 (0,7)	55,8 (2,3)	19,4 (1,4)
101	8,9 (0,7)	4,9 (0,3)	10,9 (0,5)	56,9 (2,6)	18,5 (1,5)
114	9,3 (1,9)	4,9 (0,6)	11,5 (1,5)	56,5 (3,6)	17,9 (0,5)
128	8,5 (1,3)	4,4 (0,3)	10,4 (0,6)	57,1 (2,5)	19,6 (1,5)
146	7,8 (0,9)	4,8 (0,3)	11,5 (0,6)	57,4 (1,1)	18,5 (1,7)

Les valeurs sont exprimées en % du C total et les valeurs entre parenthèses sont les écartypes (n = 4)

Des différences significatives ont été calculées (test de Wilcoxon-Mann-Whitney) entre 4 et 146 jours pour C<sub>alkyle</sub>, C<sub>O-alkyle</sub>, C<sub>aromatique</sub> et C<sub>phénolique</sub> ( $p < 0,05$ ), mais aucune différence n'apparaît pour C<sub>carbonyle & carboxyle</sub> (Tableau 11). Cependant, le groupe des C<sub>carbonyle & carboxyle</sub> présente une augmentation de 8,3 à 9,3 % entre 4 et 114 jours, puis une diminution jusqu'à 146 jours à 7,8 %. C<sub>alkyle</sub> diminue fortement de 22,4 à 18,5 % pendant le compostage alors que les groupes C<sub>O-alkyle</sub>, C<sub>aromatique</sub> et C<sub>phénolique</sub> augmentent respectivement de 54,8 à 57,4, 10,2 à 11,5 et de 4,3 à 4,8 %.

**Tableau 11** : Analyse des variances (test de Wilcoxon-Mann-Whitney) des valeurs d'intégrations des groupes de carbone par RMN (campagne B)

Paramètre	<i>p</i>
C carbonyle & carboxyle	0.564
C phénolique	0.043
C aromatique	0.021
C O-alkyle	0.021
C alkyle	0.021

Ces regroupements, souvent utilisés dans la littérature, ne montrent que les changements globaux et sont peu informatifs. Ainsi, travailler à partir de pics précis ou de rapports entre pics est plus avantageux. A cette fin, plusieurs rapports ont été calculés :

- Un indice d'aromaticité a été utilisé pour caractériser l'évolution des composés aromatiques (Inbar *et al.*, 1991; Vincelas-Akpa & Loquet, 1997), correspondant au rapport  $C_{\text{aromatique}} (110-165 \text{ ppm}) / C_{\text{alkyle}} (0-110 \text{ ppm}) + C_{\text{aromatique}}$ .

- Le modèle de Haw *et al.* (1984) a été adopté pour calculer le contenu en lignine. L'intérêt de ce modèle est de prendre en compte l'ensemble des carbones de la lignine *i.e.* les carbones aromatiques, mais aussi les carbones aliphatiques.

- Pour étudier la dégradation de la lignine, le rapport entre les sous unités Syringyle et Guaiacyl (S/G) a été calculé. Ce rapport est calculé à partir du rapport des intensités des signaux à 153 sur 147 ppm (Martinez *et al.*, 1999).

- Pour étudier la dégradation de la cellulose, une étude de son degré d'organisation a été effectuée grâce au rapport entre deux formes du C<sub>4</sub> de la cellulose, correspondant à la forme cristalline et à la forme amorphe du polymère. Cette cristallinité est définie par le rapport entre des intensités du pic spécifique au C<sub>4</sub> de la cellulose amorphe à 84 ppm et du pic spécifique au C<sub>4</sub> de la cellulose cristalline à 89 ppm (Wikberg & Maunu, 2004).

Ces calculs ont été appliqués à l'ensemble des spectres de composts et les résultats sont exprimés dans le Tableau 12.

**Tableau 12** : Evolution au cours du compostage de l'indice d'aromaticité, de l'estimation du contenu en lignine, du rapport Syringyle sur Guaiacyle (S/G) et du degré d'organisation de la cellulose calculés à partir des pics RMN (campagne B)

Temps (jour)	Aromaticité %	Teneurs en lignine %	Syringyle sur Guaiacyle S (153 ppm) / G (147 ppm)	Cellulose cristalline / amorphe C <sub>4</sub> (89 ppm) / C <sub>4</sub> (84 ppm)
4	15,8 (1,8)	21,1 (2,8)	1,05 (0,04)	0,82 (0,16)
18	15,4 (1,3)	20,3 (2,0)	0,89 (0,08)	0,77 (0,02)
31	14,5 (0,7)	18,9 (1,1)	0,70 (0,14)	0,79 (0,01)
40	15,5 (1,1)	20,5 (1,7)	0,66 (0,12)	0,91 (0,02)
57	16,9 (0,9)	22,7 (1,4)	0,77 (0,10)	0,91 (0,04)
67	15,6 (2,2)	20,8 (3,4)	0,84 (0,27)	0,96 (0,06)
84	17,6 (1,3)	23,9 (2,2)	0,77 (0,07)	1,02 (0,08)
101	17,3 (1,0)	23,4 (1,6)	0,79 (0,13)	1,12 (0,10)
114	18,1 (2,6)	24,7 (4,4)	0,73 (0,22)	1,03 (0,04)
128	16,2 (1,0)	21,6 (1,6)	0,75 (0,20)	1,09 (0,10)
146	17,6 (1,0)	23,9 (1,7)	0,73 (0,09)	1,01 (0,04)

Les valeurs entre parenthèses sont les écarts types ( $n = 4$ ).

L'examen des données montre que la diminution des  $C_{alkyle}$  peut être associée à celle de deux pics spécifiques majeurs inclus dans ce groupe : les pics à 35 et 40 ppm assignés aux  $CH_2$  des protéines et des lipides. Baddi *et al.* (2004) ont observé une diminution semblable en 12 mois de compostage avec une perte de 97 % des lipides. De même, Castaldi *et al.* (2005) ont remarqué une diminution du signal aliphatique au cours du compostage. Les protéines et les lipides étant des constituants majeurs des boues de stations d'épuration (Reveille *et al.*, 2003), ceux-ci sont donc naturellement présents en quantité importante dans le mélange initial. Cette diminution des  $C_{alkyle}$  semble indiquer que les micro-organismes utilisent préférentiellement les constituants les plus facilement métabolisables. Cette « préférence » métabolique est aussi perçue à travers l'augmentation du taux des  $C_{aromatique}$  et  $C_{phénolique}$  notamment assignés à la lignine ou de celui des  $C_{O-alkyle}$  attribué aux polysaccharides *i.e.* cellulose et hémicelluloses. Les  $C_{O-alkyle}$  sont classiquement assignés aux polysaccharides, car le signal combiné de la cellulose et des hémicelluloses écrase celui des carbones aliphatiques de la lignine selon Haw *et al.* (1984) et Wikberg & Maunu (2004).

Cette « préférence » est aussi perceptible grâce au calcul de l'aromaticité. L'aromaticité est un indice d'humification couramment utilisé dans la littérature, procurant une vision globale de l'évolution des composés aromatiques et permettant de caractériser l'humification à partir de leur accumulation (Vinceslas-Akpa & Loquet, 1997). L'augmentation de la part des groupements  $C_{aromatique}$  et  $C_{phénolique}$  et la diminution des  $C_{alkyl}$  engendrent une augmentation significative de l'aromaticité dans nos composts avec des valeurs de 15,8 à 4 jours et 17,6 au terme du processus.

L'estimation de la lignine par le modèle de Haw *et al.* (1984) permet aussi de révéler cette tendance. La lignine est un polymère composé d'unités phénylpropane tels que l'alcool coniférylique (unité guaiacyle), l'alcool *p*-coumarylique et l'alcool sinapylique (unité syringyle), liés entre eux par une grande variété de liaisons chimiques, ce qui le rend récalcitrant à la dégradation (Marche *et al.*, 2003). Le taux de lignine augmente ainsi de 21 à 23,9 % entre 4 et 146 jours de compostage, ce qui semblerait correspondre à une accumulation de ce composé. Cependant, Tuomela *et al.* (2000) ont rapporté que la lignine présente des risques de fortes modifications et dégradations pendant le compostage. De même, Kogel-Knabner (2002) explique que la lignine subit une oxydation graduelle ainsi qu'une incorporation de groupements carboxyles durant sa biodégradation. Ainsi, la quantité de lignine devrait diminuer pendant le compostage alors qu'ici elle augmente légèrement. Le modèle mathématique de Haw *et al.* (1984) permet une estimation de la teneur en lignine, mais ne dispense aucune information sur son état *i.e.* sa modification pendant les processus d'humification. Chen *et al.* (1989) ont expliqué que d'importantes modifications de la lignine pendant le compostage peuvent engendrer les augmentations des groupements C<sub>phénolique</sub> et C<sub>carbonyle & carboxyle</sub>. En effet, une corrélation significative a été calculée entre le contenu en lignine et le groupement C<sub>phénolique</sub> ( $r^2$  de 0,967 et  $p < 0,01$ ). Cette relative accumulation des composés aromatiques et phénoliques pourrait ainsi provenir d'une vitesse de dégradation plus lente que celle d'autres composés plus simples tels que ceux compris dans les C<sub>alkyle</sub> *i.e.* protéines et lipides. Un autre indice révélateur des transformations subies par la lignine est la diminution du rapport Syringyle / Guaiacyle. Celui-ci diminue durant la maturation avec des valeurs de 1,05 à 4 jours et 0,73 en fin de compostage. Plusieurs études ont rapporté de semblables diminutions de ce rapport pendant la transformation de substrats ligno-cellulosiques par des champignons de la pourriture blanche (Martinez *et al.*, 1999; Rio *et al.*, 2002; Vane *et al.*, 2006). Par ailleurs, ces modifications ont été démontrées dans le sol avec notamment une diminution du rapport S/G corrélée à une augmentation de la profondeur, elle-même reliée au degré d'humification (Chefetz *et al.*, 2000). Tous ces auteurs expliquent cette diminution par une dégradation préférentielle des micro-organismes des unités syringyles par rapport aux unités guaiacyl. Rio *et al.* (2001, 2002) ont suggéré que cette préférence de dégradation des unités syringyl est reliée à la prédominance de liaisons éther en position C<sub>4</sub> du cycle aromatique, alors que les unités guaiacyl incluent une part de liaisons C-C en C<sub>5</sub>, (position libre *i.e.* sans groupement méthoxyle), de laquelle résulte le fort degré de condensation et de résistance aux attaques fongiques.

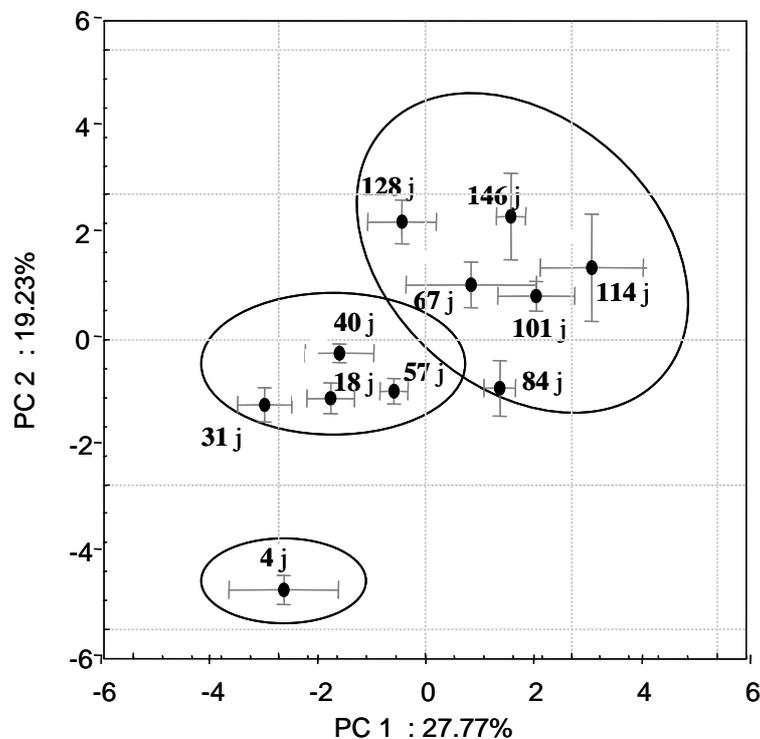
De même que la lignine, les polysaccharides subissent des modifications pendant le compostage. En effet, le degré d'organisation de la cellulose, exprimé par sa cristallinité, augmente significativement ( $p < 0,05$ ) de 0,82 à 4 jours à 1,01 après 146 jours de compostage. Le pic de la cellulose cristalline (89 ppm) augmente de 3,3 à 4 % durant les 5 mois du compostage alors que le pic de la cellulose amorphe diminue de 4 à 3,5 % dans le même temps. En accord avec Wikberg & Maunu (2004), le pic majeur de la région des  $C_{alkyle}$  à 21 ppm et le pic à 173 ppm correspondent respectivement aux méthyles et carboxyles des groupements acétyles des hémicelluloses. Ces deux pics présentent une diminution de leur signal avec respectivement 5,5 à 4,3 % pour le pic à 21 ppm et de 4,8 à 2,9 % pour le pic à 173 ppm entre 4 et 146 jours de compostage. Or, Wikberg & Maunu (2004) ont affirmé que la déacétylation des hémicelluloses, perceptible par la diminution des signaux à 21 et 173 ppm, libère des acides acétiques qui provoquent la dépolymérisation des polysaccharides les moins ordonnés *i.e.* la cellulose amorphe. Cette hypothèse est vérifiée par l'augmentation de la cristallinité de la cellulose. Subséquemment, en dépit de la stabilité ou de la légère augmentation des  $C_{O-alkyle}$  pendant le compostage, la libération et la minéralisation des carbones méthyliques et carboxyliques témoignent des modifications et des dégradations subies par les polysaccharides.

### III.3.2. Analyses multivariées des données RMN

La déconvolution des spectres RMN permet une étude des différentes conformations du carbone et de leur évolution ainsi qu'un calcul de paramètres précieux (aromaticité, teneur en lignine, rapport S/G ou degré d'organisation de la cellulose) caractéristiques des modifications de la matière organique. Néanmoins, seule une fraction de l'information est traitée parmi les abondantes données fournies par la RMN. Les analyses multivariées permettent de combler cette lacune en prenant en compte l'ensemble de l'information. L'analyse en composante principale (ACP), notamment, est une méthode d'analyse factorielle permettant d'effectuer la synthèse de l'information contenue dans un grand nombre de variables (ici les 32 pics RMN) grâce à l'obtention de « composantes principales » qui sont de nouvelles variables, indépendantes, combinaisons linéaires des variables initiales possédant une variance maximale. Ces composantes principales (PC) autorisent une représentation graphique de grandes quantités de données trop complexes à décrire par les méthodes graphiques habituelles. Falissard (1996) a expliqué qu'il est possible d'y observer, au sens

propre du terme, des regroupements, des oppositions, des tendances directionnelles, impossible à discerner sur une grande matrice de nombres même après un examen prolongé.

Ainsi, une ACP (Figure 37) a été appliquée aux données issues de la déconvolution des spectres de composts par RMN (44 composts et 32 pics). PC1 et PC2 expliquent respectivement 27,8 % et 19,2 % de la variance totale : les composts du même âge sont représentés par leur barycentre. La carte factorielle met en évidence trois groupes de composts (ou clusters). Les composts de 4 jours sont très différents des autres et forment un premier cluster. Les composts de 18, 31, 40 et 57 jours forment un deuxième cluster, le troisième étant constitué par les composts de 67, 84, 101, 114, 128 et 146 jours. Par ailleurs, il est également intéressant d'observer une distribution chronologique des composts sur PC2.



**Figure 37** : Carte factorielle produite par l'ACP des données RMN des 44 composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types

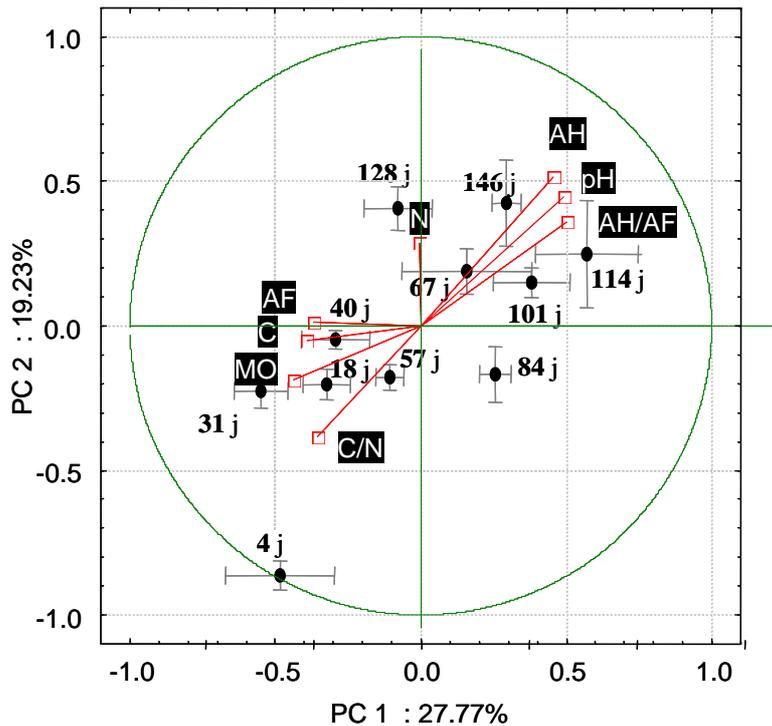
En accord avec l'ACP, les propriétés spectroscopiques des composts changent en fonction de la progression du processus de maturation. L'ordination chronologique des composts sur PC2 permet, en effet, de distinguer les composts en fonction de leur composition chimique et donc suivant leur maturité. Zbytniewski & Buszewski (2005) rapportent que les analyses multivariées apportent d'intéressantes informations sur le

processus de compostage et les changements structuraux subis par la matière organique, difficilement appréciables lorsque les paramètres sont analysés séparément. Les composts de 4 jours sont clairement séparés de tous les autres avec un écart-type élevé sur PC2. Ceci peut être expliqué par la forte hétérogénéité de la matière organique en début de compostage. Les deux autres clusters, constitués de composts plus âgés, sont attenants même si leur coordonnées diffèrent sur PC2 *i.e.* suivant leur maturité. Yohalem *et al.* (1996) ont affirmé que l'homogénéité des composts grandit avec leur maturité. De façon similaire, Hsu & Lo (1999) ont suggéré que le processus de compostage transforme la matière organique hétérogène en une composition de produits uniformes, comme il est possible de l'observer sur la Figure 37.

### III.3.3. Influence des facteurs chimiques sur l'humification

Sur la base de l'analyse en composante principale, trois groupes de composts à différentes étapes de maturation peuvent être identifiés. De la même manière, l'étude des diverses variables chimiques, en particulier C/N, MO et AH a montré que le compostage comporte des phases d'activité distinctes dans le temps, comme rapporté par de nombreux auteurs (Hsu & Lo, 1999; Amir *et al.*, 2006; Zhang & He, 2006). Ces phases correspondent à différentes étapes de transformation de la matière organique, qui peuvent être observées à l'intérieur de la carte factorielle de RMN sous la forme de trois clusters.

L'application de la RMN au compostage est un moyen très puissant d'étude des processus de maturation. L'ACP appliquée à la RMN, rend possible l'étude des changements globaux de la composition chimique et fournit un « fingerprint » intéressant pour contrôler le progrès dans le processus de compostage. Cependant, il serait intéressant d'obtenir des informations sur les paramètres chimiques majeurs affectant la classification des composts par ACP. En effet, la carte factorielle ne fournit aucune information sur le rapport entre la distribution chronologique des composts PC2 et l'évolution chimique de la matière organique. Dans le but d'apprécier l'influence des facteurs chimiques sur l'ordination par ACP, un cercle de corrélation de ces variables a été calculé. Les variables chimiques ont ainsi été utilisées comme variables additionnelles non actives dans l'ordination. Les résultats sont représentés par le cercle de corrélation sur la Figure 38.



**Figure 38** : Carte factorielle et cercle de corrélations produits par l'ACP des données RMN et les variables additionnelles C, N, C/N, pH, MO, AH, AF, AH/AF (non actives dans l'ordination) des 44 composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types

Trois clusters de variables chimiques apparaissent : AH, pH et AH/AF sont dirigés vers les composts les plus matures (101, 114 et 146 jours) et les variables AF, C, MO et C/N vers les composts les plus jeunes (4, 18, 31, 40 et 57 jours). La variable N ne dispense pas de directions claires, même si N semble être orienté vers les composts de 128 jours. Pour évaluer l'influence de ces variables, un calcul des corrélations de Pearson a été effectué entre les variables chimiques et les deux composantes principales. Les résultats sont exposés dans le Tableau 13.

**Tableau 13** : Corrélation entre les paramètres chimiques et les deux premières composantes principales de l'ACP des données RMN de composts de la campagne B

	pH	AH	AH/AF	C/N	MO	C	AF	N
PC1	0,49 **	0,46 *	0,50 **	- 0,36 *	- 0,44 *	- 0,39 *	- 0,37 *	0,00 <sup>NS</sup>
PC2	0,45 *	0,52 **	0,36 *	- 0,38 *	- 0,19 <sup>NS</sup>	- 0,05 <sup>NS</sup>	0,02 <sup>NS</sup>	0,29 <sup>NS</sup>

valeur de  $p$  \* $<0,05$ , \*\* $<0,01$ ; NS = non significatif

Les facteurs AH, AH/AF et pH présentent des corrélations significatives ( $p < 0,05$ ) avec PC1 et PC2. Les facteurs C/N, MO, C et AF sont significativement corrélés avec PC1 ( $p < 0,05$ ), mais pas avec PC2, et le facteur N ne présente aucune corrélation significative avec PC1 et PC2. Ainsi, corrélés avec PC1 et PC2, les facteurs chimiques pH, AH, AH/AF et C/N sont les facteurs chimiques principaux et sont donc reliés au degré de transformation de la matière organique exprimé par l'ordination chronologique des composts sur la carte factorielle. Ces résultats corroborent la corrélation entre AH, AH/AF, C/N, le pH et le degré de maturité établie par plusieurs auteurs (Hsu & Lo, 1999; Huang *et al.*, 2006). Ces facteurs chimiques (AH, AH/AF, C/N, pH) sont dirigés soit vers les composts jeunes, soit vers les composts les plus matures et expriment ainsi leur influence sur le procédé de maturation. La classification par analyse multivariée montre clairement deux phases : la décomposition rapide de la matière organique facilement biodégradable suivie de l'humification de la matière organique et de la formation de substances polycondensées. La première phase, *i.e.* les composts de 4, 18, 31, 40 et 57 jours, sont sous l'influence des facteurs MO, pH et C/N alors que la seconde phase est influencée par les facteurs pH, AH/AF et AH. Ceci confirme l'indispensable connaissance de la structure des substances humiques dans le cadre d'une meilleure gestion des procédés de compostage.

### ***Conclusion chapitre III***

L'étude des paramètres humidité, teneur en C, N, rapport C/N et teneur en MO durant les six mois de compostage a mis en évidence une forte activité biologique pendant la phase bio-oxydante. Cette activité a été attribuée à la minéralisation de matières facilement dégradables, notamment révélée sur les spectres RMN du  $^{13}\text{C}$  par la diminution drastique des  $\text{C}_{\text{alkyle}}$ . Cette diminution pourrait être une cause possible de l'alcalinisation progressive du compost, bien qu'une libération d'ions  $\text{NH}_4^+$  puisse aussi en être responsable. Par ailleurs, la stabilisation de la teneur en MO et du rapport C/N a clairement indiqué un ralentissement de la minéralisation des matières organiques accompagné d'un processus d'humification. Celle-ci a ensuite été confirmée par le fractionnement humique avec une forte augmentation des AH après deux mois de compostage et par la spectroscopie UV-visible, avec la diminution des rapports  $\text{Q}_2/\text{Q}_6$  et  $\text{Q}_4/\text{Q}_6$ . Les résultats de RMN  $^{13}\text{C}$  et de l'analyse multivariée des données chimiques indiquent également une nette modification de la composition chimique des composts entre 0 – 57 et 67 – 146 jours.

# *Chapitre IV.*

## *Activités biologiques pendant le compostage*

---

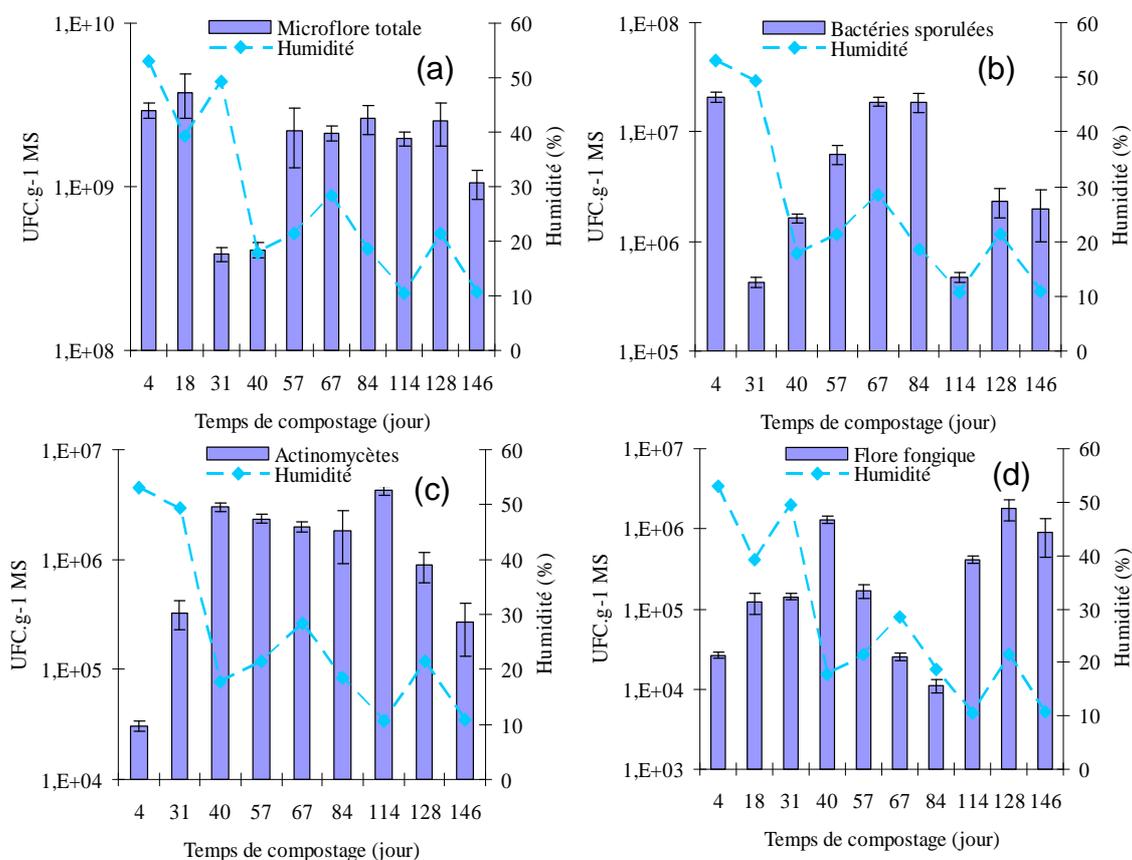
*Les mécanismes de décomposition, de minéralisation et d'humification impliqués pendant le compostage se traduisent par des changements notables et mesurables d'éléments chimiques. Les activités microbiennes, à la base des ces transformations, subissent, elles aussi, de fortes modifications au cours de ces processus. Cette évolution se traduit par des modifications des communautés microbiennes présentes et actives, mais aussi des activités enzymatiques à travers les processus successifs et/ou simultanés de minéralisation et d'humification.*

## IV.1. Evolution des communautés microbiennes

### IV.1.1. Dénombrements microbiens

Dans le processus de compostage, les micro-organismes jouent un rôle clef. La présence de certaines espèces reflète les qualités d'un compost mature (Ryckeboer *et al.*, 2003). Le suivi des successions microbiennes au cours de l'évolution du compost apparaît donc essentiel à la compréhension des phénomènes liés à l'intervention des micro-organismes dans la transformation de la matière organique.

Dans ce but, un dénombrement de la microflore cultivable a été effectuée au cours du compostage de boues de stations d'épuration mélangées à des déchets verts. Les composts de la campagne B ont ainsi été utilisés pour déterminer la présence et la quantité de quatre groupes de micro-organismes : la microflore totale, les bactéries sporulées, les actinomycètes et la microflore fongique (Figure 39). Cette approche pragmatique autorise des corrélations entre les phénomènes abiotiques et les données microbiologiques (Ryckeboer *et al.*, 2003).



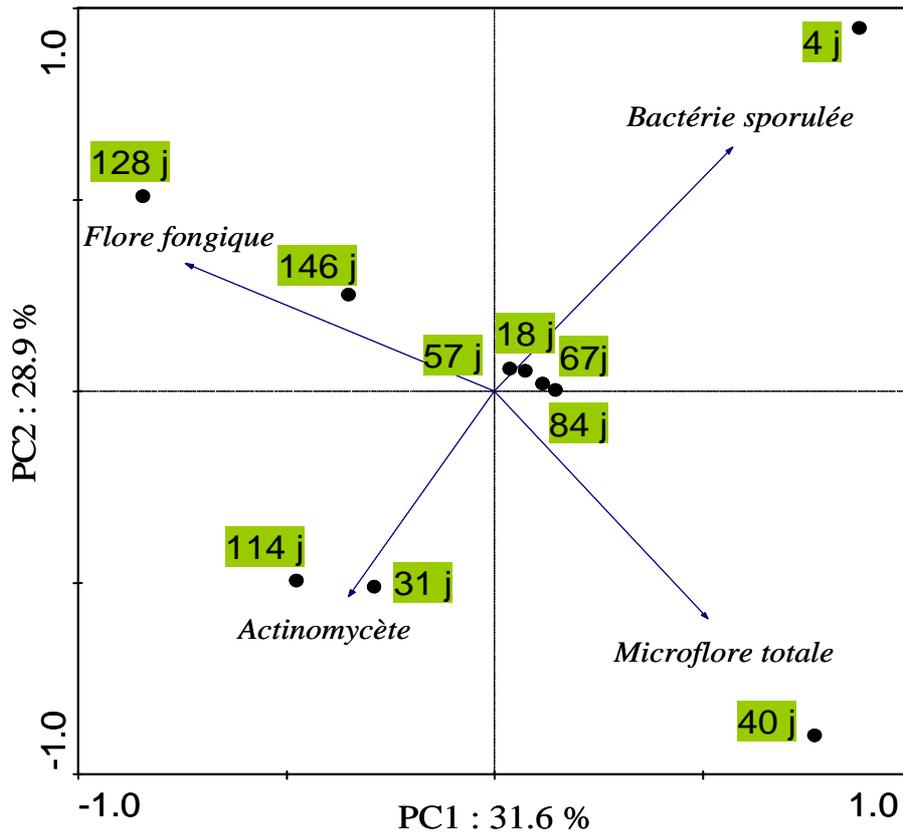
**Figure 39 :** Dénombrement de la microflore totale (a), des bactéries sporulées (b), des actinomycètes (c) et de la flore fongique (d) et mesure de l'humidité des composts de la campagne B

La microflore totale reste stable pendant tout le processus de compostage avec des valeurs comprises entre  $3,8.10^8$  et  $3,75.10^9$  UFC.g<sup>-1</sup> MS. En revanche, les populations de bactéries sporulées varient de 2 unités log. Une importante population :  $2,8.10^7$  UFC.g<sup>-1</sup> MS est mesurée à 4 jours *i.e.* pendant la phase bio-oxydante exothermique où la température engendrée par les activités métaboliques est la plus élevée (Chapitre III). Les conditions défavorables à de nombreux types de bactéries sporulantes provoquent, alors, leur passage sous forme résistante *i.e.* sous forme de spores. Lorsque la température diminue ( $35\text{ °C}$  à 35 jours cf. Chapitre III) le nombre de bactéries sporulées diminue jusqu'à  $4,27.10^5$  UFC.g<sup>-1</sup> MS à 31 jours, puis augmente à nouveau à partir de 57 jours lorsque les conditions se dégradent, *i.e.* lorsque l'humidité diminue fortement.

Les actinomycètes n'apparaissent en importante quantité que lorsque les conditions de leur développement sont réunies, *i.e.* après la phase thermophile et lorsque le pH atteint des valeurs légèrement basiques (Chapitre III). En effet, une augmentation de  $3,05.10^4$  à  $2,99.10^6$  UFC.g<sup>-1</sup> MS entre 4 et 31 jours est mesurée lorsque l'humidité diminue *i.e.* après 31 jours, comme l'ont rapporté Finstein & Morris (1975) et Ryckeboer *et al.* (2003). Tiquia *et al.* (2002) ont observé des augmentations des populations d'actinomycètes similaires pendant la phase de maturation. Ces auteurs ont expliqué que ces micro-organismes, pendant la phase de « cooling », *i.e.* après la phase thermophile, dégradent activement la cellulose et les hémicelluloses présentes.

La flore fongique connaît trois phases : une augmentation entre 4 et 40 jours, suivie d'une chute de deux unités log, puis de nouveau, une augmentation jusqu'au terme du processus. Les mêmes tendances ont été observées par De Bertoldi *et al.* (1983) pour les actinomycètes et les champignons ligninolytiques dans le compost. Ces auteurs ont expliqué ces schémas biologiques par des conditions plus adéquates à l'égard de ces deux groupes de micro-organismes pendant la phase de maturation du compost (température, humidité et pH), mais aussi par la présence prédominante de substrats tels que la cellulose et la lignine. Tiquia *et al.* (2002) ont aussi observé une diminution des populations de champignons en début de compostage suivie d'une augmentation en fin de processus.

Dans le but de synthétiser l'information issue des dénombrements microbiologiques et de caractériser les composts, une ACP a été appliquée. La carte factorielle est présentée par la Figure 40.



**Figure 40** : Carte factorielle et cercle de corrélation de l'ACP des données de dénombrements microbiologiques des composts de la campagne B en fonction du temps de compostage

La carte factorielle montre une disposition particulière des composts, les plus âgés se situant à gauche de la carte. Ces composts de 114, 128 et 146 jours, sont sous l'influence principale de deux paramètres : les populations d'actinomycètes et de champignons, micro-organismes retrouvés en grande quantité en fin de compostage. Cependant, la distinction entre les composts âgés de 4 à 84 jours reste difficile. En effet, un cluster de composts (18, 57, 67 et 84 jours) et deux composts isolés (4 et 40 jours) rendent délicate la distinction de ces composts en ce qui concerne leur population microbienne selon le degré d'avancement du compostage. Il est néanmoins clairement établi que différentes phases se succèdent pendant le compostage et qu'elles sont caractérisées par des populations microbiennes spécifiques, souvent décrites dans la littérature (Finstain & Morris, 1975; De Bertoldi *et al.*, 1983; Tiquia *et al.*, 2002; Ryckeboer *et al.*, 2003). En revanche, notre connaissance des successions microbiennes reste limitée par notre capacité à étudier spécifiquement les micro-organismes du compost. Kirk *et al.* (2004) ont notamment rappelé l'abondante diversité des micro-organismes en citant, pour exemple, l'estimation de 5000 espèces bactériennes dans un seul gramme de sol.

La méthode de numération sur gélose pour étudier les successions microbiennes est la méthode traditionnellement utilisée bien qu'elle présente de nombreux inconvénients. En effet, bien qu'elle permette de suivre l'évolution de groupes particuliers de micro-organismes dans le temps, le dénombrement est une méthode longue et fastidieuse. La limitation est aussi due au faible pourcentage de micro-organismes cultivables. De nombreux auteurs estiment, en effet, que l'on ne sait cultiver que 0,1 à 10 % de la totalité des micro-organismes (Torsvik *et al.*, 1998; Blanc *et al.*, 1999; Grayston *et al.*, 2004; Haruta *et al.*, 2005). Steger *et al.* (2003) ont souligné le fait que le dénombrement est sélectif et n'est pas représentatif de la flore microbienne dans le compost. Par ailleurs, si des micro-organismes sont isolés sur des milieux sélectifs, leur état, actif ou non actif, dans le compost n'est pas connu.

#### IV.1.2. Profils métaboliques

Bien que le compostage soit une technologie ancienne et bien connue, le procédé de compostage est l'une des biotechnologies les plus complexes qu'il soit, par le grand nombre d'états physiques et biologiques successifs inhérents au processus (Haruta *et al.*, 2005). Pour ces auteurs, le faible nombre de micro-organismes détectés par les méthodes de culture sur milieux spécifiques ne permet pas d'expliquer l'ensemble des successions microbiennes et qu'une étude devrait être envisagée sous différents aspects, tels la composition et de la succession des communautés pendant le processus, les micro-habitats, ainsi que les fonctions des micro-organismes au sein de la communauté.

Le but premier de la microbiologie du compostage a été de décrire quels types de micro-organismes étaient présents dans un milieu donné. Cependant, une autre approche est de déterminer quelles sortes d'activités métaboliques sont exprimées dans le but d'établir non pas simplement un état de la diversité microbienne, mais une étude de la diversité physiologique sans doute plus représentative de la réalité des mécanismes au sein du compostage. Dans ce but, une méthode d'étude des profils métaboliques a été appliquée aux composts de la campagne de prélèvements B : le système Biolog. L'analyse des profils physiologiques au sein de la communauté (Community Level Physiological Profiles ou CLPP) est basée sur la capacité des micro-organismes à utiliser différents substrats carbonés. Cette méthode a rencontré de nombreux succès dans la caractérisation des communautés microbiennes provenant de différents habitats (Mondini & Insam, 2003). Les CLPP sont déterminés à partir de lectures de densités optiques des puits de microplaques contenant des substrats spécifiques.

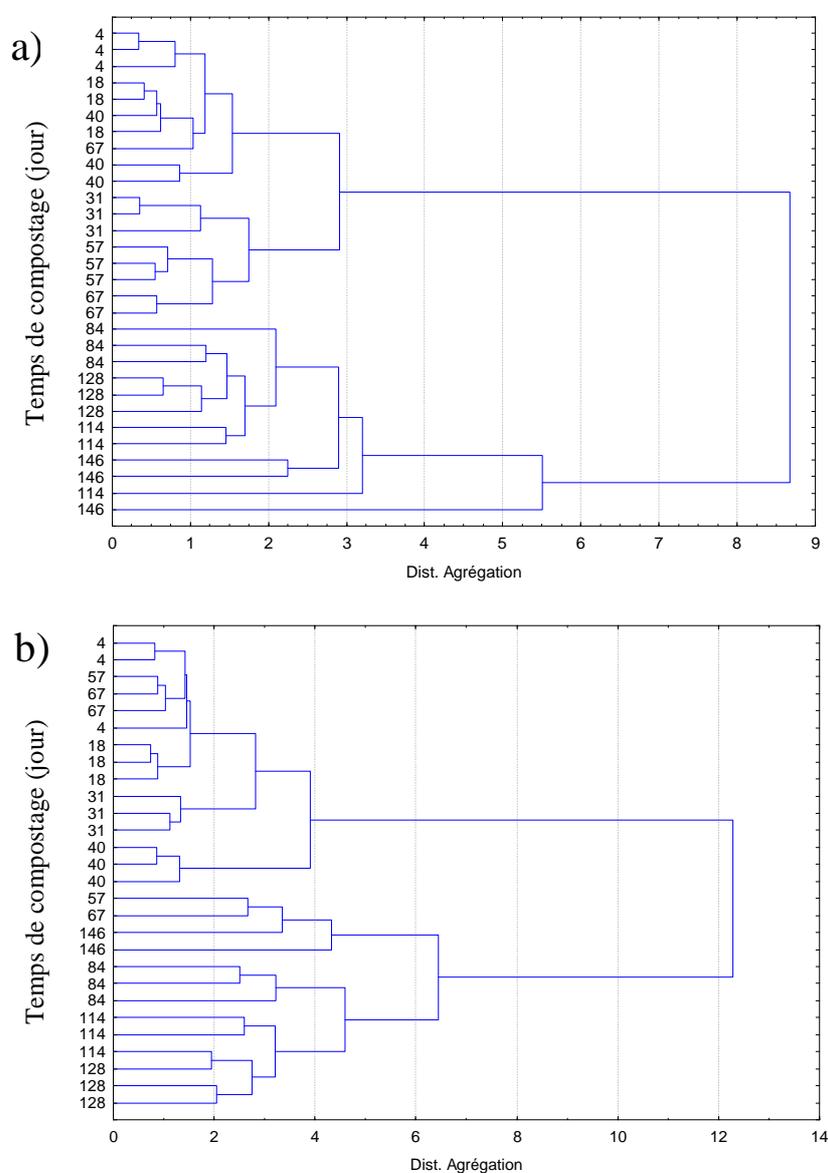
La procédure d'analyse des données adoptée a été celle développée par Garland & Mills (1991) et Garland (1996, 1997) appelée « average well colour development » AWCD qui reste la plus utilisée dans la littérature. Cette valeur d'AWCD représente l'activité standardisée des micro-organismes de la communauté testée pour chaque substrat. Ce calcul a été effectué pour des densités optiques de 0,5 et 0,25 pour, respectivement, les microplaques Eco et FF. Pour chaque compost, l'analyse comporte ainsi 31 valeurs d'AWCD<sub>0,5</sub> pour les microplaques Eco et 95 valeurs d'AWCD<sub>0,25</sub> pour les microplaques FF.

La standardisation de l'effet de la densité de l'inoculum initial est souvent pratiquée (Garland & Mills, 1991). Cependant, elle est laborieuse, prend du temps et la méthode appropriée d'énumération n'est encore pas définie (Mondini & Insam, 2003). D'autres auteurs ont proposé un traitement des données basé sur une lecture unique (après 72 et/ou 96 heures d'incubation) normalisée par la valeur d'AWCD de la microplaque (Garland, 1996). Dans notre cas, et dans le but précis d'observer des différences entre les composts suivant leur degré de maturité et non pas seulement entre leurs profils métaboliques, les différences de densités de l'inoculum initial ont été conservées.

#### IV.1.3. Classification des composts suivant leur AWCD

La première analyse multivariée pratiquée est une classification hiérarchique (Cluster Analysis) des phénotypes bactériens et fongiques en utilisant les distances euclidiennes et la méthode de Ward. Cette technique permet d'obtenir des dendrogrammes compartimentant les composts en fonction des phénotypes des communautés bactériennes et fongiques *i.e.* la valeur d'AWCD pour chaque substrat. Les résultats pour les composts de la campagne B sont présentés par les Figures 41a et 41b. Chacun des dendrogrammes affiche deux clusters clairement séparés. Cette compartimentation en deux branches distinctes correspond, dans le cas des microplaques Eco, à une séparation entre les composts « jeunes » (entre 4 et 67 jours) et les composts plus âgés (entre 84 et 146 jours). Cette séparation est également visible dans le cas des microplaques FF, même si la limite est moins marquée. En effet, un premier cluster englobe des composts âgés de 4 à 67 jours et le second comprend des composts de 57 à 146 jours. L'analyse des CLPP par classification révèle donc une diversité des profils métaboliques des micro-organismes en fonction de leur maturité. Preston-Mafham *et al.* (2002) ont expliqué que l'analyse par cluster extrait, parmi les individus testés, des groupes d'échantillons plus semblables entre eux qu'ils ne le sont par rapport aux autres. De nombreux auteurs ont utilisé cette méthode dans le cadre de l'étude de communautés microbiennes, que

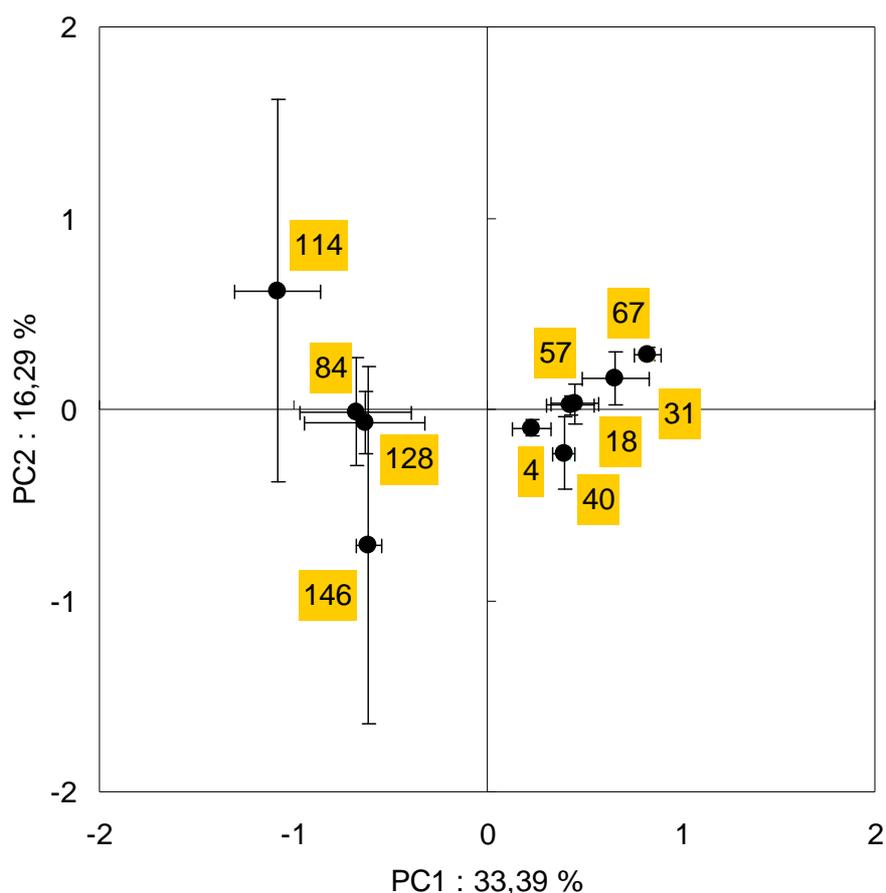
ce soit à partir de données issues de microplaques Biolog (Zak *et al.*, 1994; Lupwayi *et al.*, 2001) ou d'autres méthodes telles que l'analyse PLFA (Herrmann & Shann, 1997; Kato *et al.*, 2005) ou par électrophorèse dans un gradient de gel dénaturant *i.e.* DGGE (Crecchio *et al.*, 2004). Cependant, Glimm *et al.* (1997) ont tout de même avancé l'idée que la méthode de classification des échantillons conditionne le résultat. Les méthodes de mesure des distances (distances euclidiennes) et d'agrégation (méthode de Ward) employées, sont celles retrouvées le plus souvent dans la littérature et les plus adaptées à nos données. Néanmoins, un aspect défavorable dans l'analyse par classification est l'absence d'informations sur l'influence de la nature des substrats carbonés sur le processus de classification.



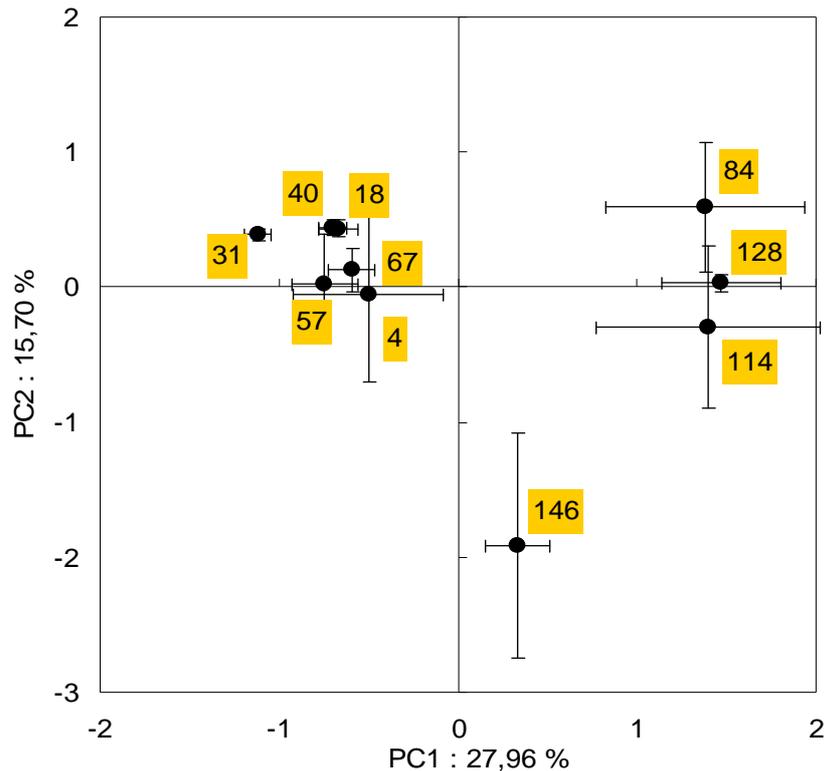
**Figure 41 :** Classification hiérarchique des composts de la campagne B en fonction du temps de compostage, a) les microplaques Eco et b) les microplaques FF

#### IV.1.4. Analyse en composante principale des CLPP

L'application de l'ACP sur les mêmes données a été effectuée dans le but de palier au manque d'information de l'analyse par classification. Les Figures 42 (microplaque Eco) et 43 (microplaque FF) présentent les cartes factorielles avec une ordination des composts en fonction des valeurs d'AWCD de chacun des substrats. L'ACP produit les mêmes schémas que l'analyse par clusters *i.e.* des relations similaires entre les individus. Cette remarque a aussi été formulée par Zak *et al.* (1994) dans le cadre de l'étude de communautés bactériennes de sols. Par ACP, les composts sont ordonnés en fonction de leur maturité. En effet, une séparation très claire est visible sur PC1 entre les composts âgés de 4 à 67 jours et les composts âgés de 84 à 146 jours, séparation qui semble donc être reliée à l'avancement du processus de compostage avec 33,39 et 27,96 % de la variance expliquée pour, respectivement, les données Eco et FF.



**Figure 42 :** Carte factorielle de l'ACP des composts de la campagne B en fonction des données AWCD de chaque substrat des microplaques Eco



**Figure 43 :** Carte factorielle de l'ACP des composts de la campagne B en fonction des données AWCD de chaque substrat des microplaques FF

L'utilisation des substrats carbonés par les micro-organismes du compost, à l'origine des différences spatiales rencontrées sur les deux cartes factorielles, semble liée au degré de maturité. Belete *et al.* (2001) ont rapporté que l'étude des profils physiologiques semblait offrir un intéressant potentiel de test de la maturité des composts. Ces résultats sont également en accord avec ceux de Hellmann *et al.* (1997) et de Mondini & Insam (2003) prouvant que la structure de la communauté microbienne varie selon l'âge du compost. De même, Herrmann & Shann (1997) ainsi que Kato *et al.* (2005) ont montré que la PLFA pouvait être utilisée dans ce même but. Mondini & Insam (2003) ont présenté les mêmes conclusions à partir de données Biolog. Ceci pourrait indiquer que les communautés microbiennes des composts matures ont des possibilités d'utilisation de substrats différentes de celles qui caractérisent la communauté microbienne des composts non stabilisés (Mondini & Insam, 2003). Pour connaître plus précisément les substrats influents dans cette distinction, les pourcentages de la variance expliquée par chacun des substrats sur PC1 ont été calculés pour les communautés bactériennes et fongiques. Une valeur seuil de 5 % de la variance expliquée a été choisie pour sélectionner les substrats à étudier plus particulièrement. Ceux-ci sont recensés dans le Tableau 14.

**Tableau 14** : Liste des substrats les plus influents sur le premier axe des ACP des données Biolog Eco et FF pour les composts de la campagne B.

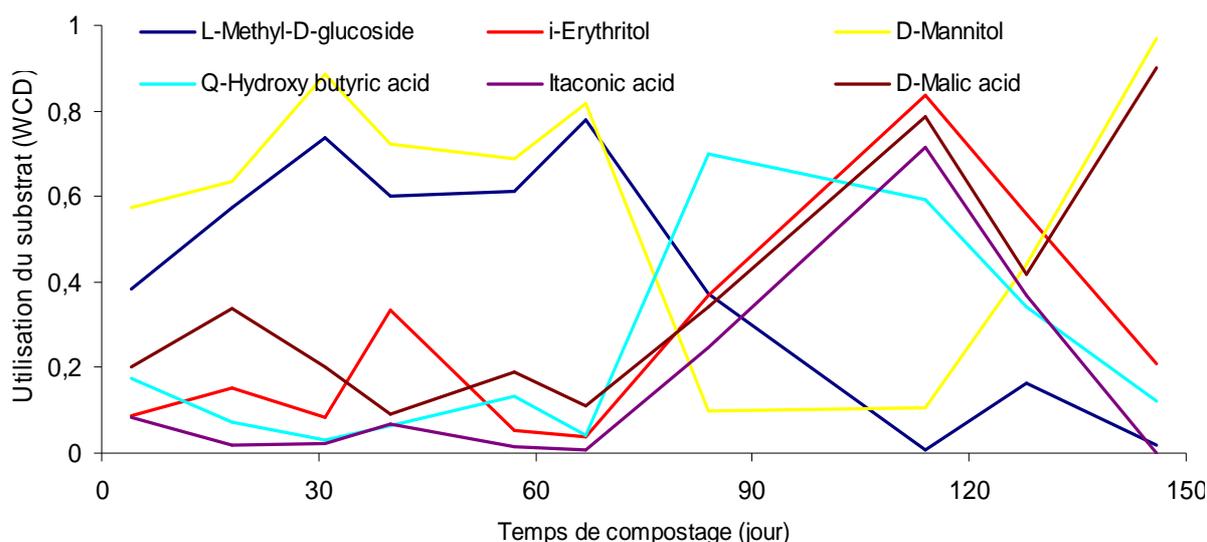
Communautés bactériennes (Eco)		
Code	Substrat	Variance expliqué (%)
A2	L-méthyl-D-glucoside	17,3
H3	acide D-malique	10,4
C2	i-érythritol	9,5
E3	acide $\gamma$ -hydroxy butyrique	8,9
D2	D-mannitol	8,8
F3	acide itaconique	7,5

Communautés fongiques (FF)		
Code	Substrats	Variance expliqué (%)
F10	acide D-malique	8,5
H4	L-proline	7,6
B10	acide D-gluconique	7,5
F12	acide quinique	7,4
G4	acide succinique	5,5
E11	xylitol	5,1
E10	turanose	5,0

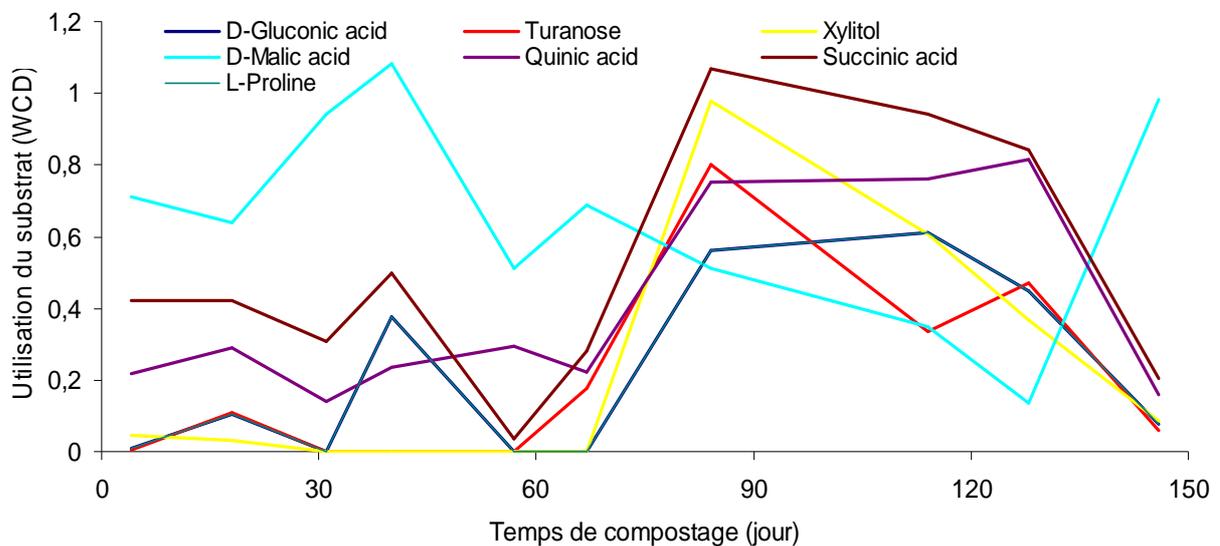
Le code est le numéro du puits de la microplaque concernée

Les utilisations de ces substrats en fonction du temps de compostage pour les données Biolog Eco et FF sont présentées par les Figures 44 et 45 à partir du développement coloré pour chaque substrat ou « well colour development » (WCD). Leur utilisation est très difficile à expliquer par le fait que les substrats entrent souvent dans plusieurs cycles métaboliques. Par ailleurs, aucune étude dans la littérature n'a tenté d'expliquer leur utilisation dans les composts. Cependant, des hypothèses ont été formulées pour nos données.



**Figure 44** : Evolution des valeurs de WCD en fonction du temps de compostage des substrats les plus influents sur PC1 de l'ACP des données Biolog Eco

L'utilisation des six principaux substrats pour les données Biolog Eco permet de distinguer deux phases (Figure 44). La première, située entre 0 et 67 jours, est caractérisée par l'utilisation du L-méthyl-D-glucoside et du D-mannitol. L'hypothèse formulée d'après ces résultats est que ces composés simples sont plus facilement dégradables que les quatre autres substrats qui ne sont fortement utilisés qu'après 67 jours, *i.e.* au moment où la WCD du L-méthyl-D-glucoside et du D-mannitol diminue fortement. La deuxième concerne les composts les plus âgés (après 67 jours) qui ont sans doute les capacités métaboliques adaptées à des composés plus difficilement dégradables tels que l'acide  $\gamma$ -hydroxy-butérique, des diacides comme l'acide itaconique et l'acide malique ou des polyols comme l'érythritol.



**Figure 45** : Evolution des valeurs de WCD en fonction du temps de compostage des substrats les plus influents sur PC1 de l'ACP des données Biolog FF

L'utilisation des six principaux substrats pour les données Biolog FF s'organise, comme pour les données Eco, en deux phases situées avant et après 57 – 67 jours (Figure 45). La première phase ne comprend que l'utilisation massive de l'acide D-malique, les autres substrats influents étant peu utilisés. Après 57 jours, ces six substrats (acide D-gluconique, turanose, xylitol, acide quinique, acide succinique et L-proline) connaissent une forte augmentation de leur WCD, *i.e.* de leur utilisation. Ceci est à mettre en relation avec les dénombrements microbiens. Notre hypothèse est que les composés simples et facilement dégradables sont très vite utilisés par les bactéries, alors que les champignons et les actinomycètes, micro-organismes à croissance lente, sont plus aptes à synthétiser des enzymes

leur permettant de dégrader des composés plus récalcitrants tels que la cellulose, les hémicelluloses et les composés aromatiques. Ceci pourrait expliquer l'importante utilisation des composés tels que le turanose et le xylitol qui peut provenir de la dégradation des hémicelluloses ou de l'acide quinique (composé phénolique) lorsque les populations de champignons et d'actinomycètes augmentent, *i.e.* après 90 jours (Figure 39).

#### IV.1.5. Diversité métabolique et maturité

Un autre aspect de l'analyse du compostage par la technique Biolog, est l'évolution de la diversité métabolique au sein des communautés. De nombreux auteurs ont en effet montré que la diversité augmentait avec la maturité des composts. Mondini & Insam (2003) ont émis l'hypothèse, à partir de données Biolog, que les communautés bactériennes au sein de composts en phase de maturation sont plus complexes que celles observées dans des composts immatures. Ces conclusions reposent sur le fait que ces auteurs ont remarqué que les profils métaboliques des composts âgés sont plus affectés que les composts immatures par la dilution de l'échantillon faite avant l'ensemencement en microplaques. Les ACP, appliquées aux CLPP des échantillons de composts de la campagne de prélèvements B, montrent, dans le cas des essais en microplaques Eco ou FF, que les composts présentent des écart-types sur la carte factorielle (Figures 42 et 43) beaucoup plus importants lorsqu'il s'agit de composts âgés (84 à 146 jours) que de composts « jeunes ». Ces importantes différences entre les utilisations des substrats, reflétées par les écart-types sur PC1 et PC2, révèlent ainsi une plus grande diversité métabolique. Halet *et al.* (2006) ont également montré, à partir d'extractions d'ADN et d'ARN, que la diversité des bactéries mésophiles et thermophiles augmente pendant la phase de maturation bien que leurs activités diminuent. De même, Ryckeboer *et al.* (2003) ont observé, à partir de dénombrements microbiens, que la diversité augmentait pendant la période de maturation simultanément à une baisse de l'activité microbienne mesurée par l'hydrolyse de la FDA. Ces auteurs ont rencontré le schéma inverse pendant la phase thermophile du compostage, avec une forte activité et une faible diversité microbienne. Une hypothèse serait que le nombre de produits disponibles différents augmente par le fait que, pendant la maturation, les produits du catabolisme des composés récalcitrants sont plus nombreux que dans les composts « jeunes ». Ceci entraînerait une augmentation du nombre d'espèces et donc de la diversité.

## IV.2. Activité biologique

### IV.2.1. Respiration

L'étude des successions microbiennes explique une partie des mécanismes impliqués dans le compostage, mais la recherche et l'étude des activités microbiennes peuvent également permettre d'appréhender la dynamique des différentes modifications biochimiques. Pour De Bertoldi *et al.* (1983), le compostage est un processus biologique de transformation des matières organiques, en présence de quantités appropriées d'air et d'eau, en un produit humifié et pendant lequel les activités microbiennes sont essentielles à la minéralisation des composés organiques. La mesure d'activité microbienne la plus étudiée dans les composts est la respiration. Cette mesure reflète l'activité globale des micro-organismes au sein d'un compost. La respiration exprimée par la quantité de O<sub>2</sub> consommée est souvent utilisée comme indice de stabilité des composts (Lasaridi & Stentiford, 1998; Adani *et al.*, 2006; Boulter-Bitzer *et al.*, 2006).

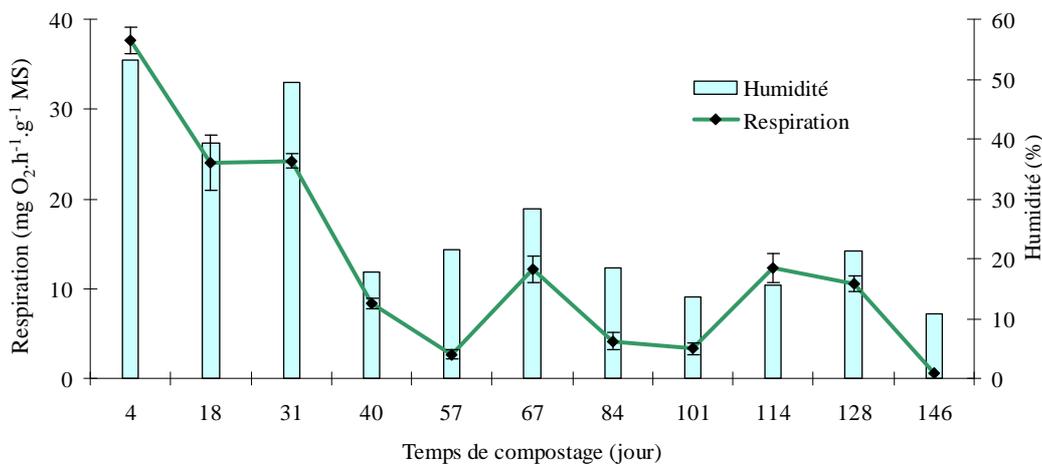
Des mesures de respiration ont été effectuées sur les composts des campagnes de prélèvements A et B. Les résultats sont présentés dans le Tableau 15.

**Tableau 15** : Mesure de la respiration des composts en andains des campagnes de prélèvements A et B

Temps jour	Compost A mg O <sub>2</sub> .h <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> MS	Temps jour	Compost B mg O <sub>2</sub> .h <sup>-1</sup> .g <sup>-1</sup> MS
1	49,94 (1,75)	4	37,61 (1,49)
14	8,03 (3,26)	18	24,05 (3,13)
27	7,65 (3,89)	31	24,22 (0,82)
41	8,23 (2,49)	40	8,34 (0,54)
57	1,12 (0,22)	57	2,69 (0,55)
69	1,43 (0,28)	67	12,17 (1,44)
82	3,20 (0,61)	84	4,16 (0,92)
88	4,88 (1,61)	101	3,31 (0,65)
95	6,70 (1,48)	114	12,31 (1,57)
116	8,15 (0,21)	128	10,58 (0,89)
131	3,59 (0,57)	146	0,63 (0,01)
145	8,13 (0,88)		
159	1,56 (0,24)		
174	0,63 (0,25)		
193	7,05 (0,42)		

Les valeurs entre parenthèses sont les écartypes (n = 3)

La même tendance est observable pour les deux campagnes avec une diminution de la respiration pendant le compostage. En effet, pour les composts A deux phases distinctes se succèdent avec une consommation d'O<sub>2</sub> très élevée entre 0 et 30-40 jours (8,23 à 49,94 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup> MS) suivie d'une respiration inférieure à 10 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup> MS jusqu'à maturation. En accord avec Adani *et al.* (2006), cette diminution de la respiration est caractéristique de l'avancement du processus de compostage et de l'augmentation du degré de maturité. Cependant, quelques sursauts de consommation d'O<sub>2</sub> sont présents à 67, 114 et 128 jours avec respectivement 12,17, 12,31 et 10,58 mg O<sub>2</sub>.h<sup>-1</sup>.g<sup>-1</sup> MS dans le cas de la campagne de prélèvements B. Ces augmentations conjoncturelles peuvent être expliquées par une augmentation parallèle et éphémère de l'humidité comme l'indique la Figure 46. Ces ré-humidifications peuvent être imputées à des variables impossibles à contrôler. En effet, les andains de composts étant stockés en extérieur, ceux-ci sont soumis aux aléas météorologiques. Chaque augmentation de l'humidité donne lieu à une reprise de la respiration, ce qui signifie que, même pour des temps de compostage très avancés, *i.e.* 128 jours, le processus de stabilisation de la matière organique n'est pas totalement terminé.



**Figure 46** : Corrélation entre mesure de la respiration et humidité du compost (campagne de prélèvements B)

La connaissance du degré de stabilité biologique atteint lors d'un compostage est nécessaire pour déterminer le potentiel d'émission olfactive, de production de biogaz, de croissance *de novo* des pathogènes et de la suppression de la phytotoxicité ou des maladies des plantes. Le début de la seconde phase du processus, caractérisée par de faibles respirations, exprime cette stabilité biologique et indique quel degré de décomposition les matières organiques ont atteint (Lasaridi & Stentiford, 1996).

## IV.2.2. Activités enzymatiques

La consommation d'O<sub>2</sub> est un indice pertinent de l'activité microbienne au sein du compost, mais d'autres paramètres peuvent aussi apporter de précieuses informations : les activités enzymatiques. Plusieurs études les ont déjà utilisées pour caractériser les processus du compostage (Mondini *et al.*, 2004), en déterminer une dynamique (Pelaez *et al.*, 2004) ou suivre un avancement (Goyal *et al.*, 2005; Tiquia, 2005). Pour Pelaez *et al.* (2004) les variations des activités enzymatiques résultent de l'intervention de nombreux micro-organismes participant à de complexes successions microbiennes où les populations de bactéries, d'actinomycètes et de champignons sont quantitativement modifiées par les conditions spécifiques propres au compostage. Les enzymes présentes dans le compost peuvent être distinguées selon qu'elles sont intra ou extracellulaires. Les enzymes intracellulaires catalysent des réactions biochimiques se produisant à l'intérieur des cellules. Plusieurs de ces enzymes peuvent, tout de même, être retrouvées au sein du compost après leur libération par des lyses cellulaires (Tiquia *et al.*, 2001). Les enzymes extracellulaires catalysent généralement la dégradation de polymères ne pouvant traverser la membrane cellulaire (Tiquia *et al.*, 2001). Différentes enzymes hydrolytiques, libérées par des micro-organismes, sont impliquées dans la dépolymérisation des constituants des déchets organiques. Les principales enzymes impliquées sont les cellulases, les hémicellulases, les phénoloxydases (peroxydases et laccases), les protéases et les phosphatases. L'étude des cellulases et des phénoloxydases est essentielle par le fait que les déchets verts utilisés contiennent une importante proportion de cellulose et de lignine. La mesure des activités protéases est également intéressante puisque les boues de station d'épuration représentent un considérable apport de protéines (Reveille *et al.*, 2003). De la même manière, la majorité du phosphore dans un compost, est retrouvée dans les matières organiques. Or, seul le phosphore minéral ou orthophosphate (PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>) est assimilable par les micro-organismes (Rao *et al.*, 1996) et sa minéralisation est catalysée par des phosphatases. Les résultats des mesures de ces activités sur les composts des campagnes de prélèvements A et B sont présentés dans la Tableau 16.

**Tableau 16** : Mesure des activités phosphatases acide et alcaline, cellulase, peroxydase, laccase et protéase sur les composts des campagnes de prélèvements A et B

Composts A						
Temps jour	Humidité %	Cellulase U.g <sup>-1</sup> MS	Peroxydase U.g <sup>-1</sup> MS	Laccase U.g <sup>-1</sup> MS	Phosphatase acide mU.g <sup>-1</sup> MS	Phosphatase alcaline mU.g <sup>-1</sup> MS
1	55,01	1,0 (0,2)	0	0	51,4 (6,7)	83,2 (14,1)
14	49,23	3,5 (0,1)	0	0,31 (0,09)	63,5 (6,0)	84,2 (5,6)
27	39,95	3,7 (0,1)	0	0	43,2 (1,8)	139,7 (15,2)
41	37,01	2,5 (0,1)	3,6 (0,2)	0,45 (0,01)	68,0 (1,7)	147,4 (5,8)
57	36,99	1,9 (0,1)	53,1 (0,9)	0,69 (0,17)	51,6 (2,6)	111,3 (11,6)
69	50,49	0,9 (0,1)	73,9 (3,5)	0,41 (0,06)	57,1 (3,1)	110,6 (13,4)
82	17,88	3,0 (0,1)	10,6 (2,0)	0,38 (0,10)	31,1 (2,8)	85,8 (3,1)
88	20,67	1,0 (0,1)	2,8 (2,5)	0,59 (0,09)	22,6 (2,2)	82,6 (5,3)
95	24,84	1,8 (0,1)	1,3 (1,1)	0,62 (0,11)	30,7 (1,7)	96,2 (4,8)
116	33,12	2,3 (0,1)	2,0 (0,4)	0,77 (0,02)	29,6 (1,4)	87,6 (4,3)
131	36,11	1,6 (0,1)	8,5 (0,2)	0,16 (0,02)	51,4 (4,1)	108,3 (1,7)
145	36,26	2,6 (0,1)	4,5 (0,2)	0,07 (0,01)	47,5 (1,7)	112,7 (3,1)
159	30,79	0,9 (0,1)	2,4 (0,1)	0,19 (0,05)	20,7 (0,3)	47,5 (2,7)
174	22,15	0,7 (0,1)	4,0 (0,3)	0,29 (0,01)	16,6 (0,8)	41,9 (1,1)
193	14,60	1,6 (0,1)	2,4 (0,8)	0	7,8 (0,4)	37,8 (4,3)

Composts B						
Temps jour	Humidité %	Cellulase U.g <sup>-1</sup> MS	Peroxydase U.g <sup>-1</sup> MS	Protéase U.g <sup>-1</sup> MS	Phosphatase acide mU.g <sup>-1</sup> MS	Phosphatase alcaline mU.g <sup>-1</sup> MS
4	53,08	2,5 (0,1)	3,8 (0,5)	0,26 (0,09)	28,1 (4,8)	82,5 (4,5)
18	39,31	4,0 (0,1)	29,5 (4,8)	0,24 (0,06)	40,0 (2,6)	121,5 (5,0)
31	49,39	6,0 (0,3)	12,8 (2,2)	0,21 (0,09)	37,0 (3,3)	111,7 (3,7)
40	17,86	3,8 (0,5)	3,6 (0,8)	0,16 (0,01)	23,4 (0,1)	70,5 (7,4)
57	21,43	3,9 (0,3)	4,2 (0,2)	0,22 (0,01)	39,6 (7,1)	128,6 (4,8)
67	28,46	1,3 (0,3)	4,0 (0,9)	0,10 (0,02)	12,4 (1,7)	62,7 (1,4)
84	18,57	2,1 (0,1)	6,1 (0,6)	0,12 (0,01)	20,8 (2,6)	73,9 (2,0)
101	13,63	3,0 (0,1)	2,1 (0,1)	0,06 (0,01)	20,0 (1,7)	61,5 (3,0)
114	15,56	1,3 (0,1)	1,3 (0,1)	0,05 (0,01)	21,1 (4,8)	53,5 (1,7)
128	21,38	1,9 (0,1)	0,8 (0,1)	0,07 (0,02)	20,4 (1,3)	58,5 (1,2)
146	10,81	1,1 (0,1)	0,6 (0,1)	0,06 (0,01)	11,3 (2,7)	44,8 (1,9)

Les valeurs entre parenthèses sont les écartypes (n = 3)

### *Les activités cellulases et phénoloxydases*

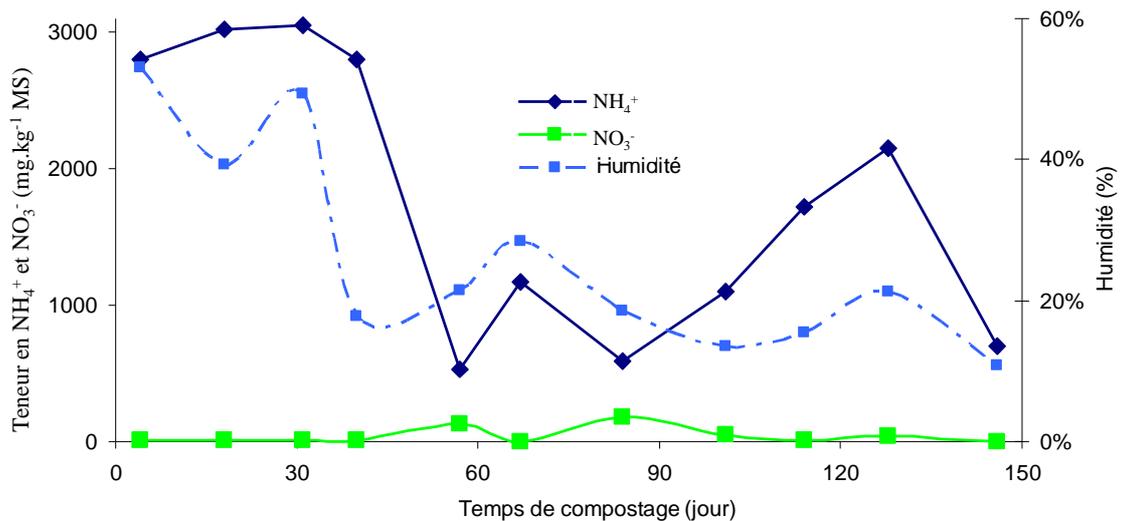
Les activités cellulases (campagne A et B) sont élevées durant les deux premiers mois de compostage (1 à 6 U.g<sup>-1</sup> MS) puis diminuent jusqu'au terme du processus (0,7 à 1,9 U.g<sup>-1</sup> MS). Les activités peroxydases présentent une forte augmentation en début de compostage : pendant le deuxième mois pour la campagne A et pendant le premier mois pour la campagne B avec des valeurs de 3,6 à 73,9 U.g<sup>-1</sup> MS. Ensuite, les activités peroxydases diminuent et se stabilisent à des valeurs inférieures à 5 U.g<sup>-1</sup> MS. Les activités laccases (campagne A) suivent le même schéma avec une augmentation de 0,31 à 0,77 U.g<sup>-1</sup> MS entre 14 et 116 jours puis une diminution. Les activités laccases n'ont pas été détectées dans les composts de la campagne B. Ainsi, les activités cellulases et les deux activités phénoloxydases présentent des tendances similaires avec une forte augmentation en début de compostage puis une

diminution et une stabilisation jusqu'à la fin du processus. Les cellulases hydrolysent les liaisons glucose  $\beta$ -1,4 de la cellulose, alors que les peroxydases et laccases modifient la structure de la lignine et initient sa minéralisation. Cependant, une partie des fibres de cellulose est imbriquée dans une matrice d'hémicelluloses et de lignine pour former le complexe lignocellulosique (Kogel-Knabner, 2002). Ce complexe pourrait être le fondement de la complémentarité des activités cellulases et phénoloxydases et les activités cellobiose déshydrogénases (CDH) peuvent expliquer la relation entre ces deux activités. Henriksson *et al.* (2000) ont passé en revue les propriétés de cette enzyme. Ayers *et al.* (1978) ont, tout d'abord, montré que la CDH oxyde le cellobiose issu de la dégradation de la cellulose en cellobionolactone, ce qui diminue l'inhibition de production des cellulases par le celliobiose. Ces auteurs ont également montré que la dégradation de la cellulose est facilitée par l'action de la CDH qui empêche les re-condensations de liaisons glycosidiques. Cependant, ces travaux n'expliquaient pas la présence du groupement hème de la CDH. Ander *et al.* (1990) et Temp & Eggert (1999) ont alors suggéré que la CDH pouvait faciliter la dégradation de la lignine par la réduction des groupements aromatiques radicalaires issus de l'action des phénoloxydases et ainsi éviter leur polymérisation. Ces groupements, alors non chargés, peuvent être minéralisés par la voie métabolique principale passant par le catéchol pas ou plus ou moins substitué (Gerhard, 1979).

### ***Les activités protéases***

Les activités protéases (campagne B) présentent une systématique diminution de 0,26 à 0,06 U.g<sup>-1</sup> MS entre 4 et 146 jours. Garcia *et al.* (1993) ont suggéré que les fortes activités protéases dans le compost étaient induites par d'importantes quantités de protéines présentes dans les boues de station d'épuration. Ces activités, supérieures à 0,2 U.g<sup>-1</sup> MS en début de compostage, reflètent ainsi les importantes quantités de substrats disponibles. Lorsque les teneurs en protéines décroissent avec le temps, les activités protéases diminuent également. Pelaez *et al.* (2004) ont observé des activités protéases élevées avec 0,22 U.g<sup>-1</sup> MS après 9 jours de compostage, suivies d'une diminution progressive pour atteindre, après 43 jours, des valeurs inférieures au seuil de détection. Les activités protéases constituent donc un bon indicateur de la phase de dégradation caractérisée par de grandes quantités de matières facilement dégradables provenant essentiellement des boues.

Dans le but d'appréhender l'influence des activités protéases sur la minéralisation de l'azote, le dosage des ions ammonium  $\text{NH}_4^+$  et nitrate  $\text{NO}_3^-$  a été effectué. Les résultats sont présentés dans la Figure 47.



**Figure 47 :** Evolution de l'humidité et des teneurs en  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$  dans les composts de la campagne de prélèvements B

Les ions ammonium  $\text{NH}_4^+$  présentent de fortes teneurs en début de compostage avec des valeurs comprises entre 2700 à 3050  $\text{mg.kg}^{-1}$  de MS entre 4 et 40 jours. Ces teneurs diminuent ensuite progressivement pour varier entre 500 et 2000  $\text{mg.kg}^{-1}$  de MS du 57<sup>ème</sup> au 146<sup>ème</sup> jour. L'activité ammonifiante conduisant à la formation de  $\text{NH}_4^+$  est corrélée de façon significative avec deux paramètres représentatifs de l'activité biologique. En effet, des corrélations significatives ont été calculées entre les concentrations en  $\text{NH}_4^+$ , la respiration et les activités protéases ( $p < 0,05$ ). De plus, les ré-humidifications et les augmentations conjoncturelles de la respiration présentées dans la Figure 46 coïncident parfaitement avec les reprises de l'ammonification à 67, 114 et 128 jours (Figure 47).

Les teneurs en nitrates présentent des valeurs très variables pendant le compostage. Cependant, il est possible de discerner une relation entre les concentrations en  $\text{NH}_4^+$  et  $\text{NO}_3^-$ . En effet, les teneurs en  $\text{NH}_4^+$  sont corrélées négativement avec les teneurs en  $\text{NO}_3^-$ , notamment pour les composts de 57, 84 et 128 jours. Cette relation peut être expliquée par une inhibition de la nitrification par les fortes concentrations en  $\text{NH}_4^+$  et par l'absence de conditions favorables au développement des micro-organismes responsables de la nitrification *i.e.* une température inférieure à 40°C et une aération suffisante (Sanchez-Monedero *et al.*, 2001). Les faibles concentrations en nitrates retrouvées dans les composts les plus âgés pourraient ainsi être dues à une trop faible aération imputable à des retournements trop espacés dans le temps.

### *Les phosphatases acides et alcalines*

Les phosphatases acides et alcalines, indépendamment des campagnes de prélèvements A ou B, présentent de fortes activités durant les deux premiers mois de compostage avec des valeurs, comprises entre 23 et 68 mU.g<sup>-1</sup> MS pour les phosphatases acides et 60 à 140 mU.g<sup>-1</sup> MS pour les phosphatases alcalines (Tableau 16). Ces deux activités diminuent ensuite progressivement. Ainsi, et quelle que soit la campagne de prélèvements, les deux activités phosphatases affichent des tendances parallèles avec des rapports de 1 à 5 entre les phosphatases alcalines et acides. Selon (Cunha-Queda *et al.*, In Press), plusieurs auteurs ont observé les mêmes tendances avec un maximum d'activité en début de compostage suivi d'une diminution. Pour Tiquia *et al.* (2001), les importantes quantités de matières organiques et de nutriments dans les composts stimulent la croissance microbienne aérobie, provoquant la synthèse de phosphatases. Ceci pourrait ainsi expliquer les importantes activités phosphatases en début de compostage puis leur diminution, corrélée à la diminution de la respiration et donc à l'activité biologique globale. Cependant, Cunha-Queda *et al.* (In Press) ont suggéré que la diminution des activités phosphatases durant le compostage pourrait être attribuée à la formation de complexes entre les protéines enzymatiques et les substances humiques, perturbant ainsi la liaison enzyme - substrat. Cette diminution pourrait aussi être due à des rétro-inhibitions de la synthèse des enzymes ou à l'inhibition de leur activité par le PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> libéré. Seuls deux composts de la campagne A présentent une augmentation après 60 jours *i.e.* à 131 et 145 jours. Ceci peut être expliqué par un accroissement de l'activité microbienne globale engendrée par une augmentation de l'humidité avec des valeurs supérieures à 35 % pour ces deux composts.

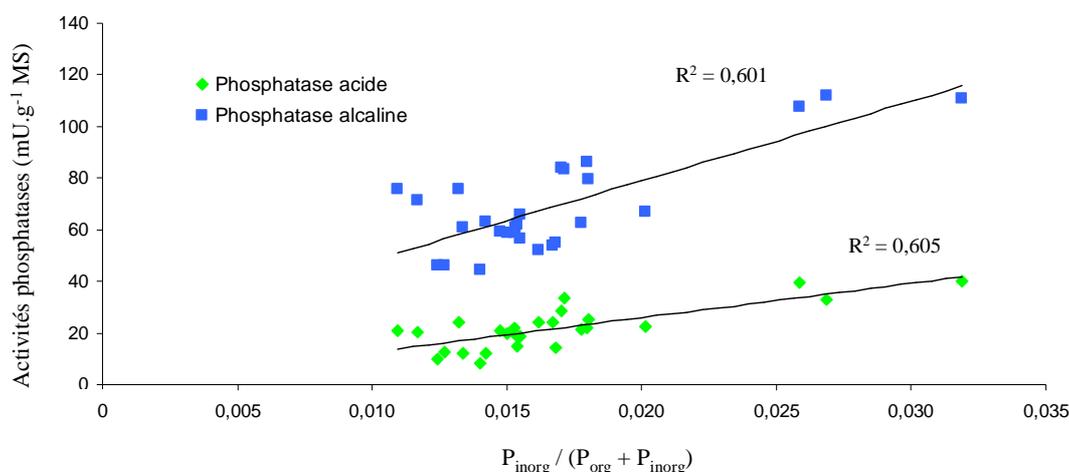
Les racines des plantes constituent une importante source de phosphatases acides dans les sols, mais sont dépourvues de phosphatases alcalines, strictement attribuées aux bactéries et champignons (Guillemin *et al.*, 1995, Criquet *et al.*, 2004). Dans notre étude, les phosphatases alcalines sont les phosphatases principales et sont clairement reliées à la respiration. En accord avec Speir & Ross (1978) et Mondini *et al.* (2004), les phosphatases alcalines pourraient constituer un indice significatif de l'activité microbienne. Dans le but d'appréhender la régulation des activités phosphatases, des analyses du P organique (P<sub>org</sub>) et du P minéral (P<sub>inorg</sub>) ont été effectuées et sont présentées dans le Tableau 17.

**Tableau 17** : Résultats du dosage du phosphore organique ( $P_{org}$ ) et minéral ( $P_{inorg}$ ) dans les composts de la campagne de prélèvements B

Temps jour	$P_{org}$ mg.g <sup>-1</sup> MS	$P_{inorg}$ mg.g <sup>-1</sup> MS
4	4,55 (0,23)	0,080 (0,005)
31	4,33 (0,15)	0,125 (0,012)
40	7,18 (0,24)	0,136 (0,005)
57	4,66 (0,89)	0,067 (0,002)
67	5,46 (0,14)	0,079 (0,004)
84	5,13 (0,36)	0,062 (0,004)
101	6,61 (0,24)	0,103 (0,002)
114	6,20 (0,16)	0,104 (0,001)
128	6,43 (0,17)	0,099 (0,001)
146	6,81 (0,40)	0,090 (0,002)

Les valeurs entre parenthèses sont les écarts types (n = 4)

Aucune corrélation n'apparaît entre les valeurs de  $P_{org}$  et  $P_{inorg}$  dosées et les activités phosphatases. La teneur en  $P_{org}$  augmente alors que les activités phosphatases diminuent pendant le compostage. Ceci peut être expliqué par la perte de matière organique engendrée par la minéralisation du carbone organique en  $CO_2$  pendant le processus, créant une augmentation relative du  $P_{org}$ . Pour s'affranchir de ce biais, le calcul du rapport  $P_{inorg} / (P_{org} + P_{inorg})$  a été effectué. Ce rapport représente le « pool » de P disponible pour les micro-organismes. Les valeurs de ce rapport sont corrélées positivement avec les deux activités phosphatases, ( $r^2$  de 0,601 et 0,605). Ces corrélations sont significatives avec un  $p < 0,01$ . La Figure 48 est une représentation de ces corrélations en trois dimensions.

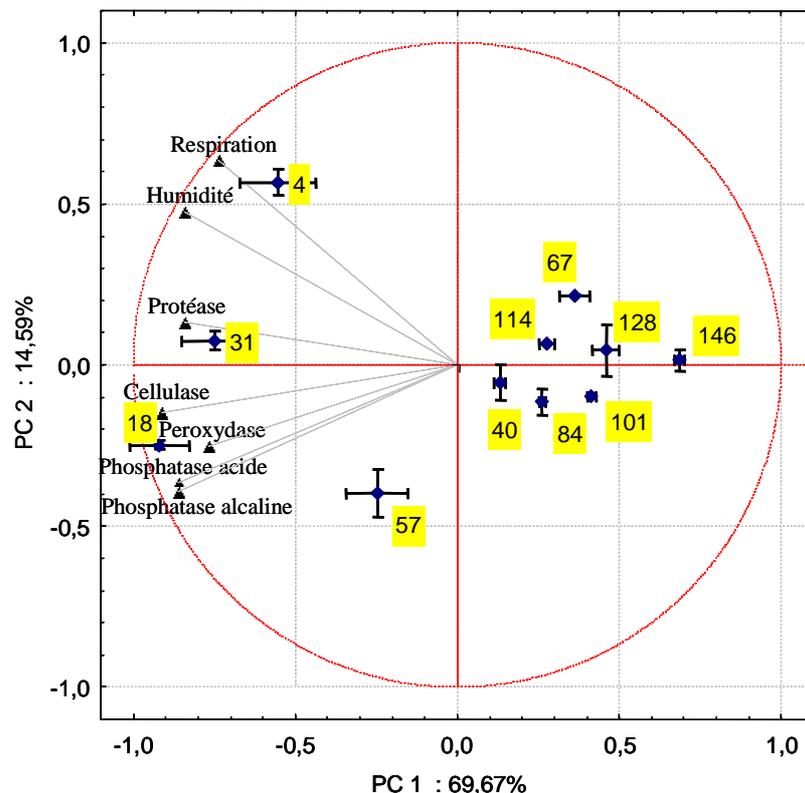


**Figure 48** : Relation entre les activités phosphatases et le rapport  $P_{inorg} / (P_{org} + P_{inorg})$  des composts de la campagne B

Le « pool » de P disponible augmente lorsque les deux activités phosphatases augmentent. Cependant, les valeurs à 57 jours (Tableau 16) semblent trop élevées avec respectivement 39,6 et 128,6 mU.g<sup>-1</sup> MS, par rapport à l'activité biologique globale qui diminue à ce stade de compostage (cellulase, respiration, protéases). Ceci pourrait être dû à l'existence d'un équilibre régissant le « pool » de P disponible symbolisé par le rapport  $P_{inorg} / (P_{org} + P_{inorg})$ . L'hypothèse est que la valeur de  $P_{inorg}$  de 0,067 mg.g<sup>-1</sup> MS à 57 jours, qui est la valeur mesurée la plus faible, est en dessous de la limite basse de l'équilibre. L'équilibre, ainsi rompu, provoquerait la synthèse massive de phosphatases expliquant les fortes activités mesurées.

#### IV.2.3. Analyse multivariée des activités biologiques

Une ACP des données biologiques (respiration et activités enzymatiques) des composts de la campagne de prélèvements B a permis d'établir la carte factorielle présentée par la Figure 49.



**Figure 49** : Carte factorielle et cercle de corrélation produits par l'ACP des activités biologiques des composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types

L'analyse a généré une variance de 69,67 % pour PC1, ce qui est considérable pour des données biologiques, et de 14,59 % pour PC2. Comme dans le cas des paramètres chimiques (Chapitre III) ou des profils métaboliques (Chapitre IV.I), PC1 correspond ici à l'avancement du compostage. En effet, PC1 présente une distribution chronologique des composts avec les plus « jeunes » situés à gauche et les plus matures à droite sur la carte factorielle.

Il est ainsi concevable de distinguer les stades de compostage à partir de leur respiration et de leurs activités enzymatiques. Le poids de ces variables biologiques sur PC1, présenté par le Tableau 18, indique une bonne répartition de la variance, puisque aucune d'entre elles n'est prépondérante. Leur poids est, en effet, compris entre 11 et 18 % de la variance sur PC1.

**Tableau 18** : Influence des paramètres biologiques sur PC1 de l'ACP des activités biologiques (campagne B)

Paramètres	Poids sur PC1 %
Humidité	14,5
Respiration	11,2
Peroxydase	12,2
Phosphatase acide	15,2
Phosphatase alcaline	15,2
Protease	14,6
Cellulase	17,1

Cependant, si la distinction est facile pour les composts dont l'âge est inférieur à 40 jours, ce n'est pas le cas pour les composts plus âgés formant un amas dans lequel les composts sont difficilement distinguables. Leur proximité sur la carte factorielle empêche son utilisation pour différencier, par exemple, un compost de 67 jours d'un compost de 128 jours.

### *Conclusion chapitre IV*

L'étude microbiologique du compostage apporte de nombreuses informations sur les populations microbiennes présentes et leurs profils métaboliques. Les différentes populations se succèdent en fonction des conditions du milieu et des ressources disponibles. Ces changements sont notamment marqués par les modifications des profils métaboliques distinguant les composts de moins de deux mois de ceux qui sont plus avancés dans le processus de maturation. L'étude de l'utilisation des substrats, permettant de mieux distinguer les stades de compostage, nécessite encore de profondes caractérisations et de nombreux essais. Par ailleurs, les sources de carbone des microplaques Biolog n'étant pas spécifiques des composts, les résultats issus de cette technique ne représentent qu'une utilisation potentielle des sources de carbone par les micro-organismes. Il serait aussi judicieux de relier les données issues de la technique Biolog à une étude génétique en utilisant par exemple la technique ARISA (Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) sur les mêmes échantillons. Cette technique présente, en effet, les avantages d'une standardisation entre différents « runs » et la comparaison des résultats entre laboratoires. De plus, elle autorise l'identification des micro-organismes de la communauté étudiée par la comparaison des profils ARISA à une librairie (Wuertz *et al.*, 2004). Il serait ainsi possible de déterminer précisément quels types de micro-organismes singularisent les groupes de composts « jeunes » *i.e* avant 57 jours, des composts les plus matures.

De la même manière, la respiration et les activités enzymatiques ont révélé une rupture de l'activité biologique après 30 jours de compostage. Une étude plus précise sur un nombre plus grand de stades de compostage permettrait d'affiner nos conclusions. Ainsi par exemple, le dosage du CO<sub>2</sub>, en plus de la mesure de la consommation d'O<sub>2</sub>, donnerait des indications sur la quantité de carbone minéralisé par rapport à l'oxygène consommé. Ceci montrerait peut être que certains métabolites secondaires s'accumulent dans les composts en phase de maturation, provoquant ainsi la diminution brutale de la consommation d'O<sub>2</sub>. En ce qui concerne les activités enzymatiques, il serait intéressant de déterminer le seuil de teneur en phosphore inorganique déclenchant la synthèse des phosphatases. Par ailleurs, d'autres enzymes seraient intéressantes à étudier dans le cadre du compostage telles que les uréases, lipases et arylsulphatases impliquées respectivement dans la minéralisation de l'azote, l'hydrolyse des lipides et des sulfates estérifiés.

# *Chapitre V.*

## *Caractérisation de la matière organique des composts par spectroscopie proche infrarouge*

---

*Les deux premiers chapitres ont montré que la recherche de la maturité est un aspect essentiel de la bonne gestion du compostage. De nombreux paramètres physiques, chimiques et biologiques ont ainsi été utilisés pour étudier les mécanismes de ce processus et pour élaborer de nombreux critères d'évaluation de sa qualité. Un outil, couramment employé dans l'industrie, mais rarement appliqué au procédé de compostage, semble être très prometteur par la qualité et la quantité d'informations qu'il génère : la Spectroscopie Proche InfraRouge (SPIR). Cette technique a ainsi permis de constituer une banque de données à partir des résultats obtenus avec 432 composts.*

## V.1. Construction d'une banque de données SPIR

### V.1.1. La spectroscopie proche infrarouge

Le principe de la SPIR repose sur les énergies de rotation et de vibration des molécules. Il est basé sur la notion de liaison de covalence au sein de la molécule constituant un système de vibrations dont les fréquences varient suivant la nature des atomes liés. L'absorption d'énergie provenant d'un rayonnement incident est conditionnée par la valeur de cette fréquence, et donc par le type de la liaison (C–H, O–H, N–H, C=O, etc.). La SPIR mesure alors la partie du rayonnement réfléchi par les vibreurs atomiques.

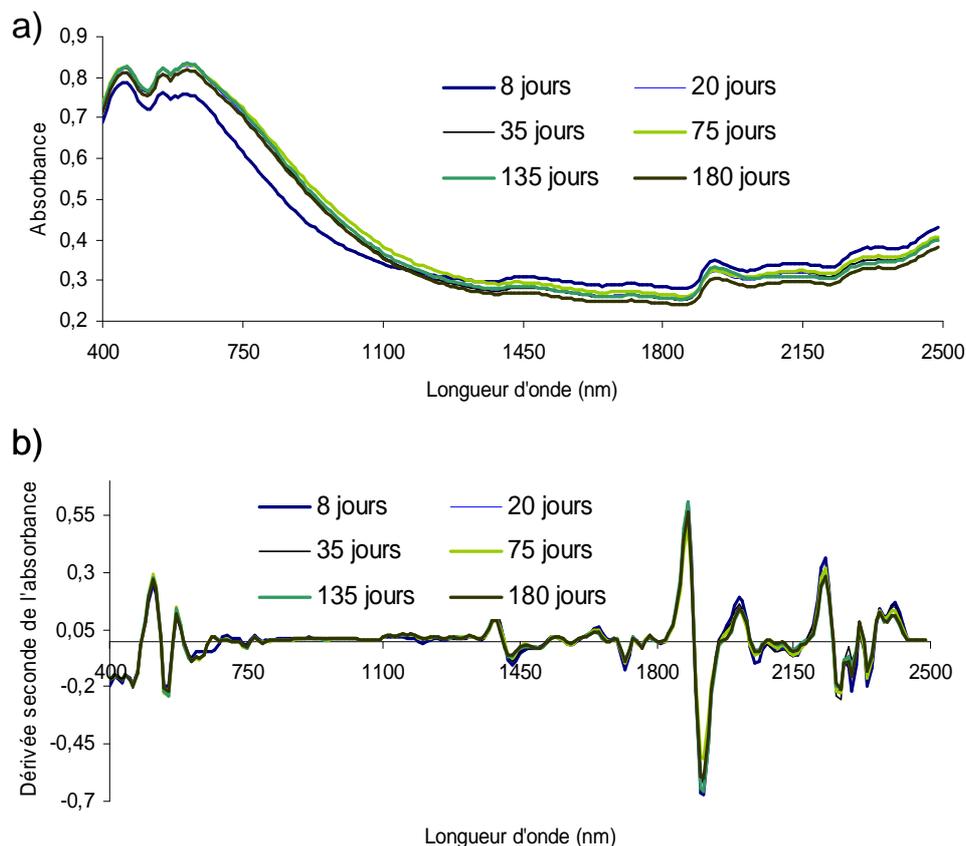
L'intérêt de la SPIR a d'abord été perçu par le monde industriel grâce à sa rapidité, sa reproductibilité et son adaptabilité à tout type d'échantillon. Cette technologie est actuellement déjà largement répandue et est en plein essor dans les domaines de l'agroalimentaire, de la pétrochimie ou encore de la pharmaceutique. Pour Ben-Dor *et al.* (1997), la SPIR n'est pas utilisée pour acquérir une donnée chimique précise, mais une technique permettant d'acquérir des résultats reproductibles, et donc capable de produire une image, ou « fingerprint » des substances organiques. Ses qualités ont été exploitées pour la recherche de pollutions (Siciliano *et al.*, 2000) ou d'estimation de la qualité des sols (Velasquez *et al.*, 2005). Des recherches ont aussi été menées dans le but de décrire les processus de décomposition de la matière organique dans les sols et les litières (Joffre *et al.*, 1992; Gillon *et al.*, 1993; Couteaux *et al.*, 2005). Quelques auteurs ont également appliqué la SPIR à l'étude des composts (Ben-Dor *et al.*, 1997; Suehara *et al.*, 2001; Malley *et al.*, 2005).

### V.1.2. Structure et organisation de la banque de données

Une base de données SPIR a été conçue autour de quatre dimensions. Trois de ces dimensions sont spatiales (hauteur, profondeur et orientation), la dernière étant une variable temporelle, le temps de compostage. Ces quatre facteurs ont été définis dans le Chapitre II. Une campagne de prélèvements de 432 composts (campagne de prélèvements C) représentatifs de six stades de maturation (8, 20, 35, 75, 135 et 180 jours) a été effectuée. Les échantillons ont été analysés par SPIR entre 400 nm et 2500 nm. Des analyses élémentaires de C et N ont également été conduites sur un panel représentatif de 60 échantillons.

### V.1.3. Traitement des données SPIR

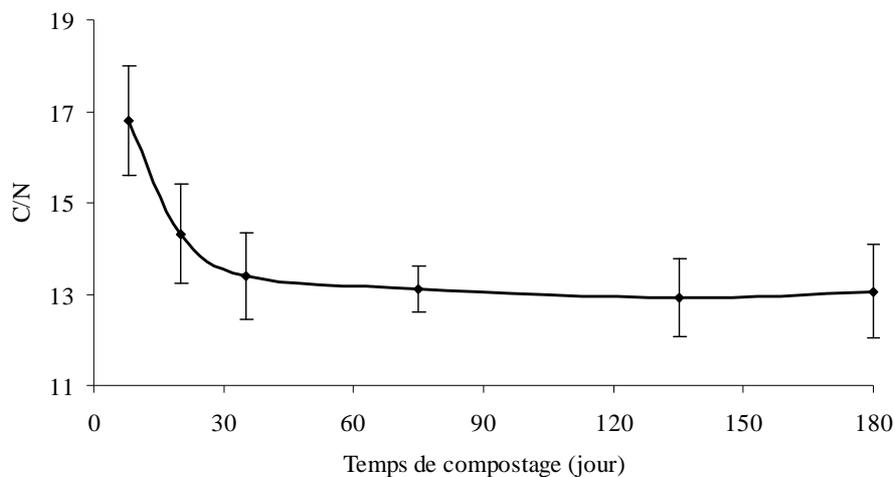
La quantité de radiations réfléchies par l'échantillon de compost permet d'en déduire la quantité de radiations infrarouges absorbée et de construire des spectres d'absorption. Ces spectres SPIR sont traités en convertissant les réflectances en absorbance (A) par la relation suivante :  $A = \log(1/R)$ . Une transformation de ces données spectrales par dérivée seconde est ensuite appliquée pour diminuer le « bruit » dû à la granulométrie de la poudre et pour séparer les bandes d'absorption. Des exemples de spectres d'absorbance brute, puis de spectres dont les absorbances ont été transformées par dérivée seconde, de composts de six maturités différentes sont présentés dans la Figure 50. La dérivée seconde permet aussi de mettre en exergue les différences d'absorbance entre les échantillons.



**Figure 50** : Exemple d'absorbance brute et de dérivée seconde d'absorbance des spectres SPIR de six composts de maturité différente, a) spectre d'absorbance non transformé, b) dérivée seconde de l'absorbance.

#### V.1.4. Analyses chimiques

L'évolution du rapport C/N, en fonction du temps de compostage, des 60 composts de la campagne C est présentée dans la Figure 51. Une diminution rapide en début de compostage du rapport C/N suivi de sa stabilisation pendant la phase de maturation peut y être observée. Les tendances de diminution brutale en début de compostage, puis de stabilisation pendant la phase de maturation, sont identiques à celles des composts de la campagne B et ont déjà été discutées dans le Chapitre III.



**Figure 51** : Evolution du rapport C/N de 60 composts de la campagne de prélèvements C

## V.2. Effet des facteurs spatio-temporels sur les données spectrales

Sept analyses canoniques de redondance (RDA) ont été appliquées aux données spectrales de SPIR des 426 composts de la campagne de prélèvements C. A l'inverse de la démarche de type exploratoire ou descriptive d'une ACP, la RDA est un processus d'ordination sous contrainte *i.e.* directement influencé par l'action de facteurs explicatifs. De plus, cette analyse permet de tester l'effet de ces facteurs explicatifs grâce à l'emploi de tests de permutations de Monte Carlo. Cette méthode a ainsi permis de tester l'effet des quatre variables spatio-temporelles, employées pour construire la banque de donnée *i.e.* la hauteur, la profondeur, l'orientation et le temps de compostage, sur l'ordination des données spectrales.

**Tableau 19** : Résultats de six RDA à partir de trois facteurs spatiaux à partir des données SPIR (campagne C)

n	8 jours		20 jours		35 jours		75 jours		135 jours		180 jours	
	72		72		72		68		70		72	
	<i>p</i>	$\lambda$	<i>p</i>	$\lambda$	<i>p</i>	$\lambda$	<i>p</i>	$\lambda$	<i>p</i>	$\lambda$	<i>p</i>	$\lambda$
Profondeur	0,523	0,01	0,002**	0,10	0,064	0,02	0,084	0,03	0,006**	0,06	0,018*	0,04
Orientation	0,002**	0,17	0,048*	0,03	0,016*	0,04	0,010*	0,05	0,002**	0,06	0,014*	0,03
Hauteur	0,531	0,01	0,014*	0,03	0,030*	0,03	0,016*	0,03	0,142	0,02	0,804	0,01

lambda de Wilk ( $\lambda$ ); *p* \*<0,05; \*\*<0,01; \*\*\*<0,001

Le potentiel de caractérisation de l'hétérogénéité du compost par la SPIR, ainsi que la sensibilité de cet outil dans l'étude des processus de compostage, ont été estimés par l'examen des effets de trois facteurs spatiaux (profondeur, orientation et hauteur) pour chacun des stades de compostage. Dans ce but, six RDA, une analyse par stade de compostage, ont été appliquées à l'étude de la répartition spatiale des composts de la banque de données. Les résultats de ces six RDA (*p* et lambda de Wilk) présentent des effets significatifs systématiques pour le facteur orientation (Tableau 19). A l'inverse, les facteurs hauteur et profondeur, présentent chacun trois effets significatifs, sans logique avec l'avancement du compostage : effets significatifs du facteur profondeur pour les âges 20, 135 et 180 jours et effets significatifs du facteur hauteur pour 20, 35 et 75 jours de compostage. L'effet significatif d'un facteur exprime le fait que deux composts du même stade de compostage mais ayant des modalités différentes, pour un des trois facteurs, présentent des différences chimiques permettant leur distinction par SPIR. Ceci atteste donc de la capacité de la SPIR à discriminer des composts selon leurs absorbances avec une sensibilité élevée puisque la SPIR peut en effet différencier, par exemple, deux composts de même maturité, même orientation, situés aux mêmes hauteurs, mais ayant des profondeurs différentes. Par ailleurs, ces résultats apportent la preuve que la SPIR permet de différencier les échantillons en fonction de l'hétérogénéité à l'intérieur de l'andain. En effet, les andains de compost sont, par nature, hétérogènes en taille et type de matériaux utilisés pour le mélange initial, ainsi que par la formation de gradients de température et d'humidité à l'intérieur même de l'andain, notamment du centre vers la surface. Ces gradients contrôlent la transformation des matières organiques et entraînent les différences spatiales de compositions chimiques du compost révélées par la SPIR. Les significativités et les différences de magnitude des facteurs

explicatifs mesurées à l'intérieur d'un même andain (Tableau 20) sont la preuve que la technique de SPIR est une technique discriminante et précise. Les effets significatifs aléatoires des facteurs profondeur et hauteur et la significativité systématique du facteur orientation pourraient être le résultat des inégalités du degré de dépendance des échantillons selon les facteurs. Cette hypothèse repose sur le fait que les distances entre deux échantillons, selon le facteur profondeur et hauteur (respectivement 0,20 et 1 m), sont plus courtes que celles correspondant au facteur orientation (5 à 10 m). Odlare *et al.* (2005) ont ainsi mis en évidence, à partir de mesure du pH et du  $C_{tot}$  dans le sol par SPIR, que de courtes distances inter-échantillons pouvaient produire de fortes dépendances. Ces dépendances pourraient masquer les éventuelles différences non montrées par l'analyse RDA. De plus, la faible homogénéisation mécanique exercée pendant le compostage ne permet pas de corriger ce biais mais, au contraire, pourrait être une cause de son renforcement pendant l'avancement du compostage.

**Tableau 20** : Résultats de la RDA sur l'ensemble des données SPIR à partir de quatre facteurs spatio-temporels

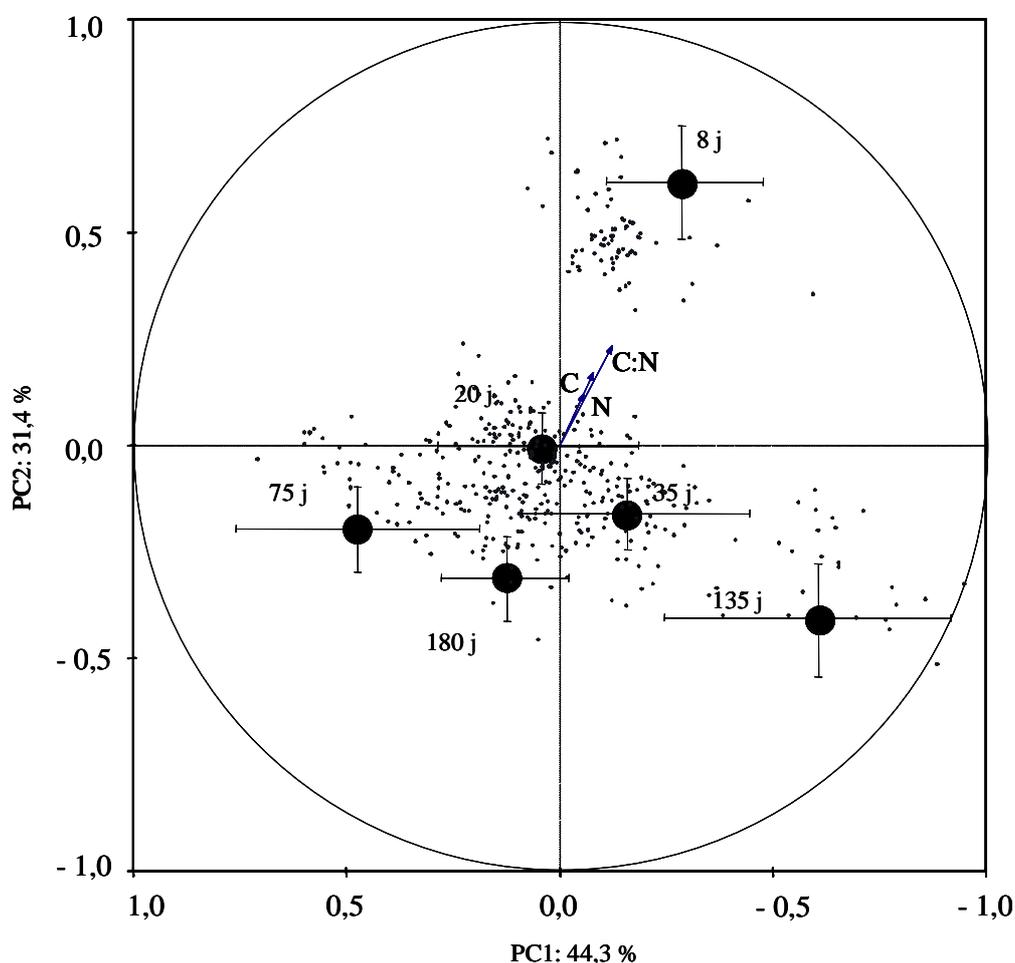
	n = 426	
	<i>p</i>	$\lambda$
Stade de compostage	0,002**	0,31
Profondeur	0,002**	0,01
Orientation	0,002**	0,01
Hauteur	0,434	0,00

lambda de Wilk ( $\lambda$ ); *p* \* $<0,05$ ; \*\* $<0,01$ ; \*\*\* $<0,001$

L'analyse RDA des données de l'ensemble de la banque de données SPIR (n = 426) révèle des effets significatifs ( $p < 0,01$ ) pour les trois facteurs : stade de compostage, profondeur et orientation (Tableau 20). Cependant, aucun effet significatif n'a été décelé pour le facteur hauteur ( $p = 0,434$ ). Le lambda de Wilk qui est une mesure du pourcentage de variance expliquée désigne le facteur stade de compostage comme étant responsable des plus importants changements sur les propriétés spectroscopiques avec 31 % de la variance expliquée ( $\lambda = 0,31$ ). En conséquence, la SPIR permet de distinguer les composts selon leurs absorbances avec une sensibilité élevée et le principal facteur de différence identifié est nettement l'avancement du compostage.

### V.3. Changements spectraux de la matière organique par SPIR

Dans le but d'étudier plus profondément les changements spectraux des composts pendant leur maturation, une analyse multivariée de type ACP a été utilisée. Celle-ci a été appliquée sur l'ensemble de la banque de données SPIR *i.e.* les 426 composts de la campagne C. Les composts de chaque stade de maturation ont été combinés, sur la carte factorielle, en barycentres accompagnés de leurs écart-types (Figure 52).



**Figure 52** : Carte factorielle et cercle de corrélations produit par l'ACP des profils de SPIR de 426 composts de la campagne C. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types

PC1 et PC2 représentent respectivement 44,3% et 31,4% de la variance. La SPIR étant basée sur l'absorption des liaisons C-H, N-H et O-H retrouvées dans les composés organiques, Ben-Dor *et al.* (1997) ont supposé que les différences observées entre les profils spectraux de composts pouvaient correspondre à des différences de composition chimique. La carte factorielle produite par l'ACP des 426 composts présente des différences évidentes entre les échantillons, comme l'ont également observé Malley *et al.* (2005). L'ordination des composts sur PC1 (44.3%) ne présente pas de tendance évidente et pourrait être attribuée à un ensemble de facteurs. La variabilité des composants initiaux ainsi que la taille de l'échantillon par rapport à la taille de l'andain pourrait faire partie de ces facteurs. Chaque andain est, en effet, issu de composants initiaux pouvant présenter des différences. Ceux-ci peuvent ainsi provenir, selon la saison, de types et d'espèces de végétaux différents ou de boues de stations d'épuration d'origine et de composition légèrement différentes.

Avec 31,4 % de la variance, PC2 présente des changements des propriétés spectrales des composts semblant être reliés au stade de transformation des matières organiques pendant le compostage. En effet, une distribution chronologique des composts peut être observée sur PC2. L'ordre chronologique des composts de 8 à 180 jours sur cet axe est clairement corrélé au stade de maturation sauf dans le cas des composts de 135 et 180 jours dont l'inversion peut être expliquée par des écart-types élevés. Un autre point intéressant sur la carte factorielle est le fait que les composts de 8 jours sont clairement séparés des autres composts et forment un cluster isolé. Cette séparation sur PC2 peut être expliquée par des différences de composition chimique. En effet, le rapport C/N diminue fortement en début de compostage, de 8 à 35 jours, puis reste stable entre 35 et 180 jours. Ce facteur est fortement lié au degré de maturité comme l'ont indiqué Huang *et al.* (2006) qui ont montré que l'évolution du rapport C/N reflète la décomposition puis la stabilisation de la matière organique pendant le compostage. Pour le vérifier, les valeurs de mesure de C, N et C/N ont été utilisées comme variables additionnelles, pour l'établissement de l'ACP, sans être actives dans l'ordination. Le cercle de corrélation (Figure 52) présente ainsi trois flèches, symbolisant ces trois variables, dirigées des composts matures (180 jours) vers les composts les plus « jeunes » (8 jours). La flèche du facteur C/N corrobore ainsi la corrélation entre la stabilisation des matières organiques et la distribution chronologique des composts sur PC2. Il est également intéressant de noter que le cluster formé par les composts les plus matures conduit à l'idée d'une stabilisation des matières organiques, pendant le processus de compostage, menant à leur homogénéisation. Yohalem *et al.* (1996) ont ainsi expliqué que l'hétérogénéité du compost tend à diminuer avec l'avancement de la maturation. Hsu & Lo (1999) ont, de la même manière, suggéré que les

processus impliqués dans le compostage conduisent les matières organiques initiales hétérogènes à évoluer vers un produit final homogène, correspondant aux observations sur la carte factorielle.

La maturité des composts étant clairement corrélée à PC2, les variables les plus influentes sur cet axe, *i.e.* les changements spectraux, ont été étudiées. Dans ce but, une sélection des longueurs d'onde ayant le plus de poids sur PC2 a été effectuée à partir de la valeur seuil de 1 % de variance expliquée. Grâce à cette méthode, 26 longueurs d'ondes ont pu être dégagées et sont présentées dans le Tableau 21.

**Tableau 21** : Contribution des longueurs d'onde représentant plus de 1 % de la variance sur PC2 de l'ACP des données SPIR

Longueur d'onde (nm)	Contribution sur PC2 (% de variance)
630	1,2
660 - 670	7,6
1720	1,0
1950	1,3
1990 - 2020	9,8
2040 - 2060	5,4
2210 - 2240	16,3
2300 - 2310	9,5
2340 - 2350	7,0
2400 - 2430	11,3

Ces 26 longueurs d'onde représentent 70,32 % de la variance sur PC2. Parmi celles-ci, six régions spectrales à 1720, 2010, 2040, 2050, 2220 et 2300 nm, représentent 42,93 % de la variance ce qui porte ce groupe au premier plan. Elles ont déjà été étudiées par Elvidge (1990) et Brinkmann *et al.* (2002) et ont été caractérisées par leur lien avec la lignine. La longueur d'onde de 2220 nm correspond aux structures chimiques C=O et CHO de la lignine. Un autre ensemble de longueurs d'onde sélectionnées sur PC2 (2040, 2060 et 2340 nm) représentent 18,3 % de la variance et correspondent à la zone d'absorption de la cellulose (Elvidge, 1990; Garciacriado & Garciaciudad, 1990; Shenk *et al.*, 2001; Shepherd *et al.*, 2003). En conséquence, la lignine et la cellulose semblent les composants principaux impliqués dans l'avancement de la maturité des composts de boues et déchets verts. Garciacriado & Garciaciudad (1990) et Murray & P.C. (1990) ont signalé que les longueurs d'onde de 2340 et de 2420 nm sont caractéristiques des protéines et des acides aminés. Les pics d'absorption situés dans la région visible du spectre *i.e.* 660-670 nm représentant 7,6 % de la variance, correspondent à l'absorption de la chlorophylle-a et pourraient donc être liés aux déchets verts dans le mélange initial.

## V.4. Capacité de prédiction par SPIR

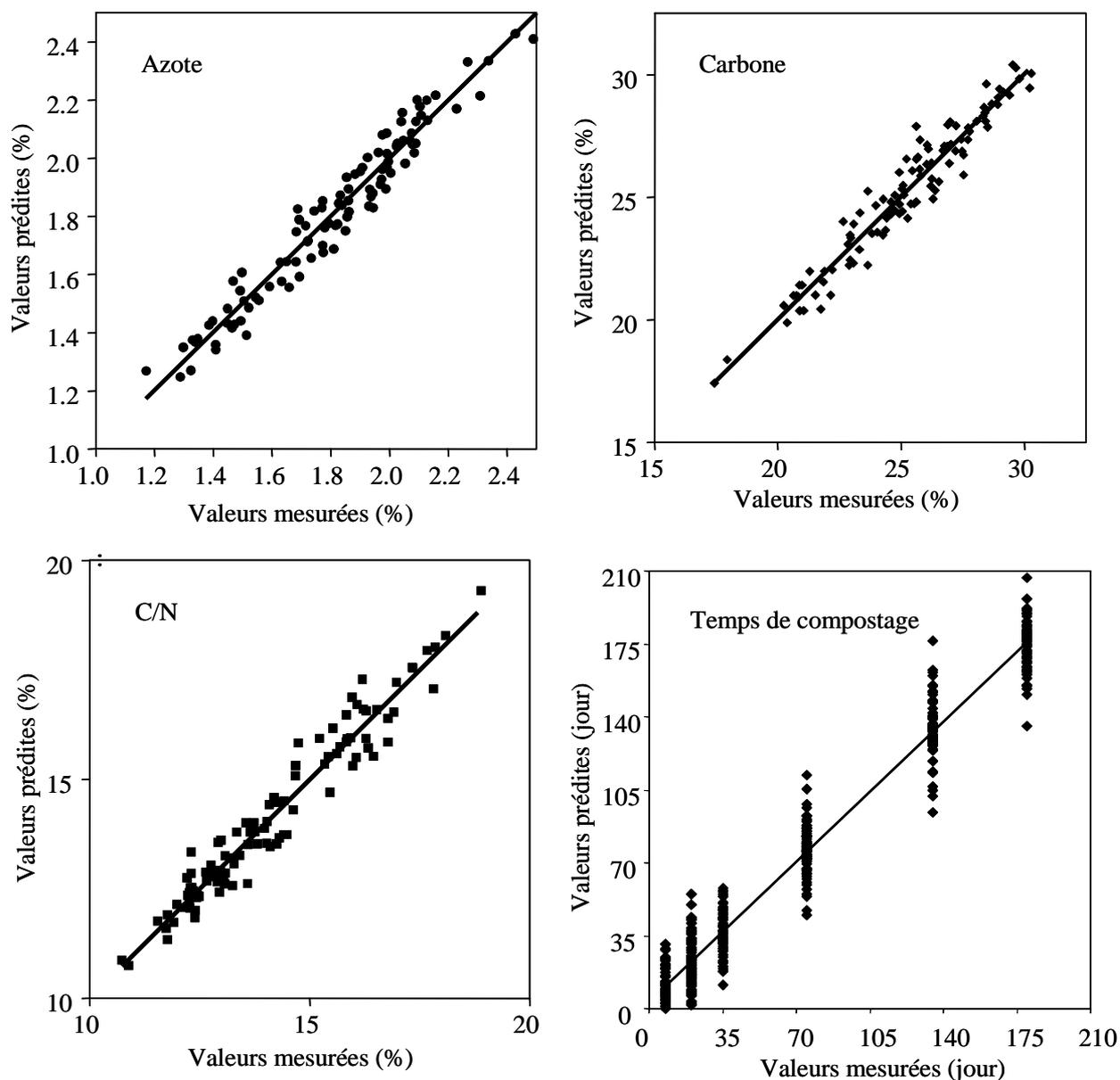
Le but de la banque de données SPIR est de faciliter l'estimation du degré de maturité d'un compost. Dans ce but, les calibrations des paramètres C, N, C/N et du stade de compostage ont été réalisées à partir des données SPIR grâce à un outil de calibration et de prédiction : la méthode des moindres carrés partiels ou Partial Least Square ou encore PLS (Shenk & Westerhaus, 1991). La méthode PLS est l'une des méthodes chimiométriques les plus couramment utilisées, notamment pour les données SPIR (Feudale *et al.*, 2002). Le but est d'établir un modèle liant les données spectrales assemblées dans une matrice (données SPIR) à la variable à prédire. L'ensemble des longueurs d'onde (400 à 2500 nm) a été utilisé pour les calibrations. Trois quarts des échantillons ont été utilisés pour établir un modèle de calibration, le dernier quart a permis sa validation. Cette méthode de validation croisée permet d'obtenir des paramètres caractéristiques de la qualité du modèle établi dont notamment la "standard error of cross-validation" (SECV). Le modèle final est ensuite recalculé avec l'ensemble des individus pour obtenir plusieurs paramètres qualitatifs de la finesse et de la précision du modèle tels que le coefficient de détermination  $R^2$ , et la « standard error of calibration » (SEC). Pendant l'analyse, les « outliers » ou individus présentant des valeurs aberrantes, sont ceux ayant une distance normalisée de Mahalanobis supérieure à 3. Six échantillons ont ainsi été exclus de la banque de données. L'ensemble de résultats pour les calibrations de C, N, C/N et du stade de compostage est présenté dans le Tableau 22.

**Tableau 22 :** Résultats des calibrations de N, C, C/N et du stade de compostage à partir des données SPIR (campagne C)

Calibrations	n	SD	SEC	R2	SECV	SD / SECV
N (%)	60	0,30	0,06	0,96	0,093	3,23
C (%)	60	2,99	0,69	0,95	0,79	3,76
C/N	60	1,97	0,38	0,96	0,58	3,38
Stade de compostage (jour)	426	63,3	12,60	0,96	14,9	4,23

SD = standard deviation, SEC = standard error of calibration, SECV = standard error of cross-validation

Les calibrations et les validations croisées ont ainsi généré des SEC et SECV respectivement égales à 0,06 et 0,093 pour N, 0,69 et 0,79 pour C, 0,38 et 0,58 pour C/N et de 12,6 et 14,9 pour les stades de compostage. La Figure 53 présente les projections des valeurs prédites en fonction des valeurs réelles pour chacun des paramètres prédits.



**Figure 53 :** Graphiques de prédiction en fonction des valeurs réelles, pour C, N, C/N et le stade de compostage à partir des données SPIR (campagne C)

La précision du modèle de calibration est estimée à partir de plusieurs critères. La valeur du coefficient de détermination  $R^2$  est souvent employée comme premier critère (Couteaux *et al.*, 2003).  $R^2$ , compris entre 0 et 1, représente la part de la variabilité expliquée par le modèle. L'équation de calibration décrit au mieux la variabilité des données spectrales quand  $R^2$  tend vers 1. Une valeur de  $R^2$  supérieure à 0,8 qualifie une calibration satisfaisante alors que pour des valeurs de  $R^2$  comprise entre 0,5 et 0,7 le modèle est approximatif. Ainsi,

des valeurs de  $R^2$  de 0,95 pour C et 0,96 pour N, C/N et le stade de compostage permettent de valider ces modèles. Néanmoins, d'autres critères plus sélectifs sont également pris en compte pour évaluer la précision des calibrations à partir des données SPIR telles que le rapport SD/SECV (Chang *et al.*, 2001; Chang & Laird, 2002). Ces auteurs ont ainsi proposé de classer les modèles en trois catégories suivant leur valeur SD/SECV. La catégorie A correspond à un SD/SECV supérieur à 2 et qualifie les meilleurs modèles. La catégorie B avec un rapport SD/SECV compris entre 1,4 et 2,0 désigne les modèles pouvant être améliorés en utilisant différentes stratégies de calibration. Les modèles de la catégorie C (SD/SECV inférieur à 1,4) sont considérés comme n'étant pas fiables. Les rapports SD/SECV obtenus pour C, N, C/N et le stade de compostage (Tableau 22) classent tous les modèles dans la catégorie A. Ces résultats corroborent la validation de ces modèles par le critère  $R^2$  et confirment la robustesse et le degré élevé de précision pour tous les paramètres prédits et, en particulier, pour le stade de compostage avec un SD/SECV de 4,23.

La validation de ces modèles indique que la SPIR, en plus de distinguer les composts suivant leurs propriétés chimiques et de discriminer les différentes étapes de transformation de la matière organique, a la capacité d'en prédire les valeurs. La sensibilité de la méthode SPIR est exprimée par la valeur de SEC. Pour le stade de compostage, celle-ci, est de 12,6, ce qui signifie que l'âge d'un compost inconnu peut être prédit avec une erreur égale à la valeur de SEC, *i.e.* moins de 13 jours. Cette valeur, très correcte pour un processus de compostage de plus de six mois, est tout de même supérieure à celles calculées par Ben-Dor *et al.* (1997) qui ont prédit des temps de compostage avec des SEC compris entre 3,1 et 12,3 jours. Ces très bonnes prévisions peuvent être expliquées par une présélection, antérieure au calcul du modèle de prédiction, des longueurs d'onde ayant les corrélations les plus élevées avec le temps de compostage. En effet, ces auteurs ont utilisé une valeur seuil de  $r = 0,90$  qui leur a permis de n'utiliser qu'un groupe restreint de longueurs d'onde. Ils ont choisi un ensemble de longueurs d'onde différent pour chaque compost étudié, ce qui rend impossible la généralisation à d'autres composts, contrairement à notre stratégie de prise en compte de toutes les longueurs d'onde et d'un nombre beaucoup plus important d'échantillons.

Le rapport C/N est largement utilisé pour caractériser la maturation des composts (Huang *et al.*, 2006) et est devenu un indice fiable d'estimation de leur maturité. Ce rapport ainsi que C et N sont très bien prédits pour l'ensemble de la banque de données. D'ailleurs le C/N a déjà été prédit pour des sols ou des composts par SPIR (Chang *et al.*, 2001; Malley *et al.*, 2005). Le rapport C/N, référence chimique interne de la banque de données, clairement relié à la maturité et aussi clairement corrélé à la distribution chronologique des composts de

l'ACP (Figure 52), confirme le potentiel de la prédiction du temps de compostage pour devenir un outil précis et puissant du suivi de l'avancement du compostage. Un avantage de la banque de données est le fait que la procédure utilisée tient compte de la variabilité des intrants initiaux au sein du compost grâce à l'échantillonnage de différents andains contrairement au suivi d'un même andain comme l'ont fait Malley *et al.* (2005). Ainsi, la procédure adoptée prend en compte l'importante variabilité rencontrée au sein des composts et devient ainsi plus facilement extrapolable. Ces prédictions sont plus facilement applicables à d'autres modes de compostage.

### *Conclusion chapitre V*

Les différentes analyses appliquées à la banque de données de composts par SPIR confirment l'utilité de cette technique dans la gestion du compostage. L'ACP et le cercle de corrélation (Figure 52) montrent en effet clairement une direction commune des flèches C, N et C/N et une corrélation avec le temps de compostage *i.e.* une stabilisation des matières organiques. Les résultats des RDA témoignent aussi des capacités de discrimination et de l'extrême sensibilité et précision de la SPIR dans la distinction des composts en fonction de leur composition chimique. De même, la validation des modèles de prédiction pour C, N, C/N et le stade de compostage atteste de l'intérêt de la SPIR pour une gestion des processus de compostage. De plus, la SPIR est une méthode rapide et pratique par le grand nombre d'échantillons pouvant être analysés en un court laps de temps. Parce que la SPIR est non destructive et peu onéreuse, cette technique pourrait devenir un outil précieux pour la gestion du compostage. Le contrôle de la maturation pourrait ainsi être fortement simplifié.

Les résultats présentés dans ce chapitre montrant la capacité de la SPIR pour prédire les stades des transformations de la matière organique pendant le processus de compostage ont fait l'objet d'un article (Albrecht *et al.*, 2007, In Press).

# *Chapitre VI.*

## *Stabilisation de la matière organique et maturité des composts*

---

*Les chapitres précédents ont montré que les processus inhérents au compostage peuvent être examinés de multiples manières et sous différents angles : minéralisation des composés organiques, formation de substances humiques, aspects microbiologiques, activités biologiques ou encore variations des profils spectraux obtenus par différentes méthodes.*

*Chacune de ces approches apporte son lot d'informations sur l'état des composts analysés. Cependant, il est absolument essentiel de connaître la qualité de cette information. En effet, pour une bonne gestion du compostage, il est nécessaire d'avoir des outils de suivi et d'évaluation de la maturité des composts efficaces et sûrs. Dans cette optique, ce dernier chapitre traite de l'évaluation de la qualité des différents paramètres utilisés et propose un nouvel outil synthétisant l'ensemble de l'information issue des méthodes chimiques et biologiques conventionnelles, basé sur les résultats obtenus par SPIR dans le chapitre précédent.*

## VI.1. Emploi de paramètres chimiques et biologiques pour estimer la stabilisation et la maturité des composts

### VI.1.1. Qualité des indices de maturité

Les valeurs du rapport C/N, de la MO et de la mesure de la respiration sont des critères couramment utilisés pour estimer la stabilité de la matière organique dans les composts (Wang *et al.*, 2004; Goyal *et al.*, 2005; Tremier *et al.*, 2005; Adani *et al.*, 2006). Ceux-ci indiquent clairement une minéralisation et une activité biologique élevées en début de compostage. Cependant, ils ne permettent pas de distinguer les échantillons les plus avancés dans le processus de compostage tels que les composts de 101 et 146 jours dans la campagne de prélèvements B. Il est possible de penser que dans les deux campagnes, à respectivement 146 et 193 jours, les composts ont déjà atteint la maturité. Ceci expliquerait la stabilisation des valeurs pour les trois paramètres C/N, MO et respiration. Cependant, d'autres paramètres montrent que le compostage n'est pas totalement terminé avec, par exemple, une augmentation constante de la teneur en AH pendant la phase de maturation.

Le pH est aussi un paramètre souvent pris en compte dans les études sur le compostage (Jimenez & Garcia, 1991; Avnimelech *et al.*, 1996; Cayuela *et al.*, 2006). En effet, celui-ci augmente avec l'avancement du processus et se stabilise ensuite à des valeurs proches de 8 comme le montrent les résultats de la campagne B, mais aussi ceux de Jimenez & Garcia (1991), Francou (2003) et Cayuela *et al.* (2006). Avant que la maturité soit atteinte, cette stabilisation empêche la distinction entre les composts « âgés ». Le pH est en effet le même (7,8) pour les composts de 128 et 146 jours de la campagne B. En accord avec Francou (2003), ce manque de sensibilité exclut l'utilisation du pH comme indicateur de maturité.

L'estimation du degré d'humification est également un critère couramment pris en compte dans la littérature (Veeken *et al.*, 2000; Jouraiphy *et al.*, 2005; Huang *et al.*, 2006). Zbytniewski & Buszewski (2005) ont expliqué que trois régions principales des spectres UV d'extraits alcalins de composts sont reliées au degré d'humification des matières organiques et correspondent aux composés en début de transformation, aux matières organiques en début d'humification et aux matières fortement humifiées. Les rapports entre ces absorbances

permettent ainsi d'évaluer le degré d'humification au sein des composts. De la même manière, l'extraction des substances humiques (AH et AF) et le rapport AH/AF apportent des informations similaires. En effet, celles-ci précisent les mécanismes de transformation des matières organiques et notamment leur humification durant la phase de maturation contrairement au rapport C/N, à la MO, au pH ou à la mesure de la respiration caractérisés par une faible sensibilité durant cette période. Ainsi, l'estimation des substances humiques constitue un bon indice de la maturité comme l'ont aussi montré Francou (2003) ou Huang *et al.* (2006).

La caractérisation par RMN du  $^{13}\text{C}$  apporte des informations très précises sur les différentes phases du compostage telles que la minéralisation des matières facilement dégradables avec la diminution des composés  $\text{C}_{\text{alkyle}}$  en début de processus ou bien encore la dégradation de la lignine grâce au rapport S/G. Cette technique, très puissante, pourrait ainsi être utile pour révéler, caractériser et expliquer les subtilités inhérentes aux types de compostage et/ou aux matières initiales. Cependant, elle ne peut pas être utilisée en routine dans un centre de compostage car elle est onéreuse et nécessite un temps d'analyse de plusieurs heures. Pour les mêmes raisons, bien que permettant une claire distinction entre les composts « âgés », l'étude des profils métaboliques des communautés microbiennes par la technique Biolog n'est pas d'un usage aisé sur une plate forme de compostage.

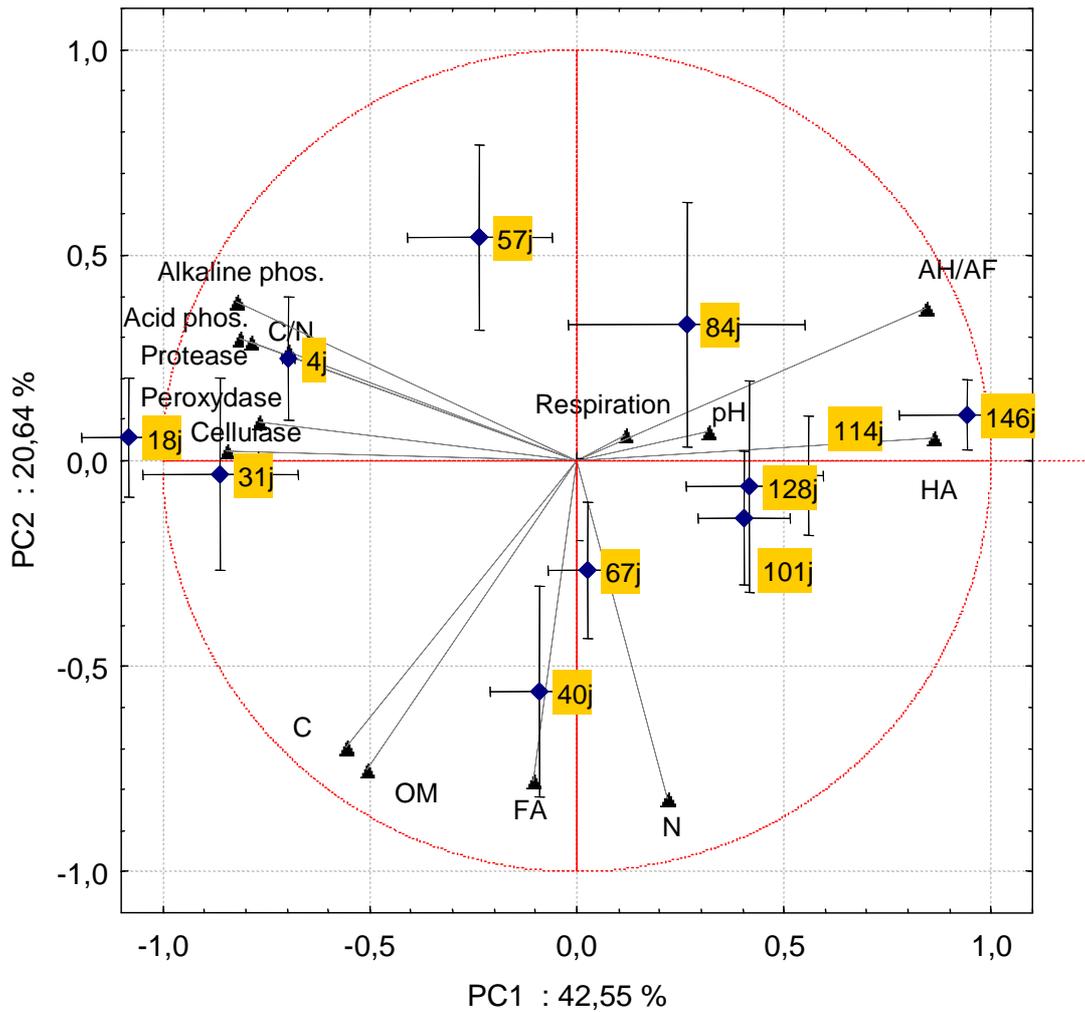
Les activités enzymatiques ont l'avantage de représenter directement les transformations biochimiques au sein du compost. Ainsi, caractériser et mesurer les activités enzymatiques permet d'appréhender la dynamique de décomposition de la matière organique inhérente au processus de compostage (De La Horra *et al.*, 2005; Goyal *et al.*, 2005). La mesure de ces activités pourrait fournir, selon plusieurs auteurs, des informations sur la stabilité (Mondini *et al.*, 2004) et la maturité des composts (Queda *et al.*, 2002 et Tiquia *et al.*, 2002). L'étude des composts de la campagne B a ainsi montré que certaines enzymes, telles les phosphatases alcalines, ont un potentiel intéressant. Mondini *et al.* (2004) ont cependant émis la remarque que le compost peut être produit à partir de substrats organiques très divers et en impliquant une large gamme de procédés. Ceci rend extrêmement difficile la généralisation de valeurs seuils d'activités enzymatiques comme indice de maturité. Par ailleurs, un suivi régulier est nécessaire pour obtenir une dynamique des activités enzymatiques pendant le compostage, ce qui rend celles-ci peu pratiques dans le cadre d'une utilisation en routine à moins de développer des tests rapides et fiables.

## VI.1.2. Globalisation de l'information

Chacun des paramètres étudiés conduit à une information sur les mécanismes du compostage et permet d'en estimer l'avancement suivant un angle précis. Comme cela a été évoqué dans le paragraphe précédent, les composts, au regard de la littérature, comportent d'innombrables différences dues aux origines des matières initiales ainsi que des techniques de compostage utilisées. Les critères d'évaluation de la maturité couramment utilisés sont ainsi souvent plus ou moins bien adaptés et cohérents et c'est la raison pour laquelle Goyal *et al.* (2005) et Boulter-Bitzer (2006) ont suggéré une combinaison de différentes techniques. En effet, aucun critère n'est utilisable de façon isolée.

A partir du même constat, une globalisation des informations, recueillies à partir de plusieurs paramètres mesurés sur les mêmes composts, a été effectuée sous la forme d'une ACP. Les données obtenues par RMN, bien qu'apportant de précieuses informations, n'ont pas été utilisées pour établir cette ACP car la RMN est une méthode inappropriée pour une utilisation en routine. Or, l'objectif de cette globalisation de l'information est de proposer un outil simple et pratique d'estimation de la qualité des composts.

Les résultats de cette analyse portant sur 42 composts de la campagne B sont présentés par la Figure 54. Deux composts de 4 jours ont été exclus *a posteriori* : leur distance de Mahalanobis était supérieure à la valeur seuil, *i.e.* 3. PC1 et PC2 représentent respectivement 42,55 % et 20,64 % de la variance. La carte factorielle présente des différences évidentes entre les échantillons et semble être scindée en deux parties avec, situés à gauche, les composts « jeunes » et à droite les composts les plus âgés. PC1 apparaît ainsi être relié au stade de transformation des matières organiques pendant le compostage avec une distribution chronologique des composts clairement établie. Comme déjà observé dans les Chapitres précédents, les principaux paramètres, corrélés au temps de compostage (PC1), sont dirigés, sur le cercle de corrélation, vers les composts « jeunes » ou vers les composts âgés. L'orientation vers les composts les plus matures de AH et AH/AF caractérise ainsi la phase de maturation. A l'inverse, les activités enzymatiques ainsi que le rapport C/N sont dirigés vers les composts âgés de moins de trois mois.

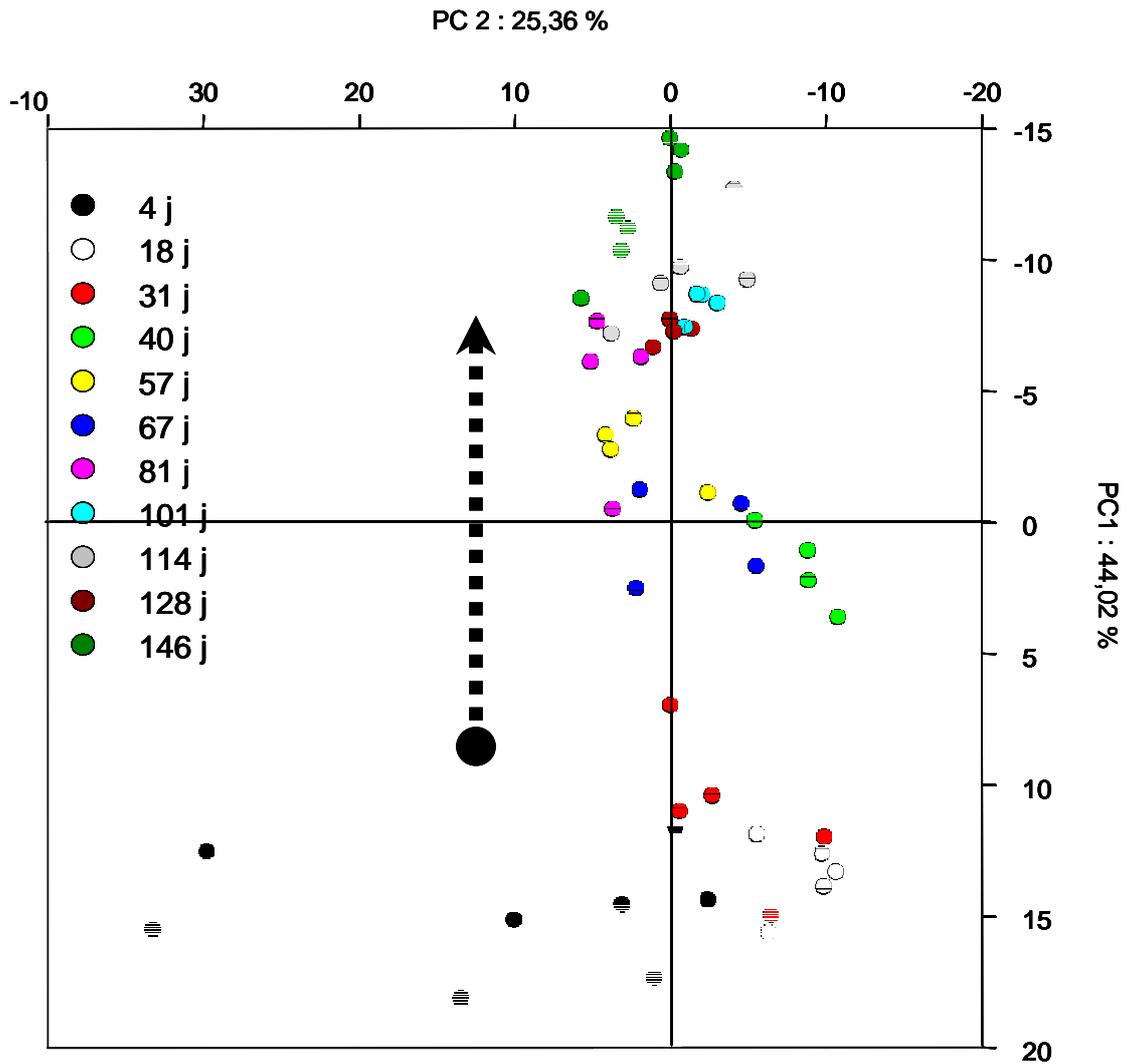


**Figure 54** : Carte factorielle produite par l'ACP des données chimiques et biologiques des 44 composts de la campagne B. Les composts de chaque âge sont combinés en barycentres accompagnés de leurs écart-types

L'utilisation simultanée de paramètres chimiques et biologiques portant chacun sur un type d'informations différentes affine donc la distinction des composts. Cette stratégie, comme la RMN, permet d'obtenir un indice puissant et pertinent. En effet, les coordonnées d'un compost sur PC1 indiquent directement quel stade de compostage est atteint. Cependant, cette procédure demande de nombreuses informations et n'est donc pas utilisable en routine.

## VI.2. Application de la SPIR pour suivre les transformations de la matière organique pendant le compostage

Dans le but d'approfondir nos connaissances sur les transformations subies par les composts de la campagne de prélèvements B, une analyse par SPIR entre 400 et 2500 nm a été réalisée. Celle-ci a été appliquée sur l'ensemble des 44 composts. Les composts de chaque stade de maturation ont été combinés, sur la carte factorielle, en barycentres accompagnés de leurs écart-types (Figure 55). PC1 et PC2 représentent respectivement 44,02 % et 25,36 % de la variance. La carte factorielle produite présente ainsi des différences évidentes entre les échantillons, comme celles observées pour la banque de données (Chapitre V) et également observées par Malley *et al.* (2005). Comme il a été précisé dans le Chapitre V, la SPIR est basée sur l'absorption des liaisons C-H, N-H et O-H retrouvées dans les composés organiques. PC1 présente des changements des propriétés spectrales des composts semblant être reliés au stade de transformation des matières organiques pendant le compostage avec une distribution chronologique des composts clairement définie. La flèche en pointillés noirs sur la Figure 55 représente cette distribution chronologique, caractéristique des différences de compositions chimiques *i.e.* de l'avancement du processus de compostage et de la maturation.



**Figure 55** : Carte factorielle produite par l'ACP des données SPIR des 44 composts de la campagne B. La flèche noire représente le temps de compostage.

Cette stratégie SPIR – ACP permet ainsi de distinguer les composts jeunes des composts matures. Avec un plus grand nombre de stades de compostage distincts (11) que dans le cas de la banque de données (6), la distinction entre les composts est plus fine et précise. Nos résultats confirment ainsi que la SPIR est un outil intéressant dans le cadre du suivi et du contrôle du compostage.

## VI.3. Utilisation de la SPIR pour prédire les différents paramètres chimiques et biologiques

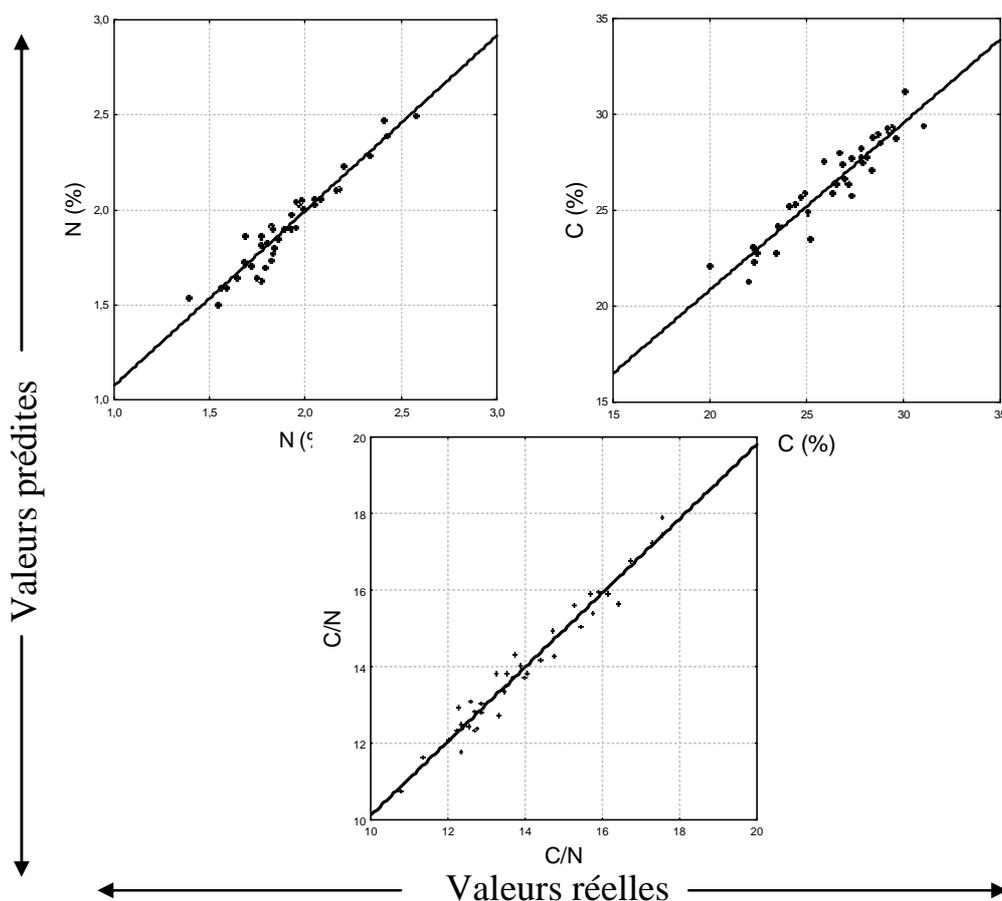
### VI.3.1. Prédiction des paramètres chimiques et biologiques

La distinction des différences de composition chimique en fonction de la maturité des composts est encourageante et la stratégie SPIR – ACP semble être un outil efficace pour déterminer l'état d'un compost sur la carte factorielle grâce à la distribution chronologique sur PC1. Cozzolino & Moron (2006) ont expliqué que la SPIR représente une fracture radicale avec les méthodes analytiques conventionnelles par le fait qu'un simple échantillon est caractérisé, sans modification chimique, en terme de propriétés d'absorption, et non par ses composants spectraux spécifiques extraits par différents solvants. La SPIR a ainsi le potentiel pour devenir une alternative aux procédures standard souvent longues et laborieuses. La technique PLS est un outil souvent utilisé pour traiter les signaux spectroscopiques et a été appliquée à de nombreuses techniques analytiques, mais son importance a surtout été révélée dans le cadre du traitement des spectres proche infrarouge (Feudale *et al.*, 2002). Cet outil a donc été appliqué aux 44 composts de la campagne B dans le but de calibrer les différents paramètres chimiques et biologiques étudiés dans les Chapitres III et IV. L'ensemble des longueurs d'onde (400 à 2500 nm) a été pris en compte. Avant l'étape de calibration, les distances de Mahalanobis ont été calculées pour chacun des échantillons. Deux composts âgés de 4 jours ayant des distances de Mahalanobis supérieures à la valeur seuil de 3 ont donc été reconnus comme ayant des spectres atypiques. Considérés comme « outliers », ces deux composts ont donc été écartés des données (Shenk & Westerhaus, 1991). Le Tableau 23 présente les résultats statistiques de calibration et la Figure 56 présente les projections des valeurs prédites en fonction des valeurs réelles pour les 14 paramètres chimiques et biologiques prédits ainsi que le temps de compostage.

**Tableau 23** : Résultats des calibrations de N, C, C/N, AH, AF, AH/AF, MO, pH, respiration, activités cellulase protéase, phénoloxydase, phosphatases acide et alcaline et temps de compostage à partir des données SPIR

Paramètres	n	Moyenne	Ecart type	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	Var. expl. (%)	SEC/SD	SD/SECV	Catégorie
N	42	1,91	0,247	0,073	0,91	0,11	81	0,3	2,28	A
C	42	26,16	2,561	0,913	0,87	1,1	81	0,36	2,33	A
C/N	42	13,86	1,741	0,349	0,96	0,54	90	0,2	3,23	A
AH	42	0,08	0,033	0,013	0,85	0,02	77	0,39	2,12	A
AF	41	0,09	0,015	0,012	0,36	0,01	13	0,81	1,03	C
AH/AF	42	0,92	0,407	0,129	0,9	0,15	86	0,32	2,72	A
MO	41	0,53	0,059	0,027	0,8	0,04	63	0,45	1,64	B
pH	41	7,32	0,331	0,156	0,78	0,16	77	0,47	2,11	A
Respiration	39	12,17	9,961	2,875	0,92	3,8	85	0,29	2,62	A
Cellulase	41	2,05	0,986	0,325	0,89	0,4	84	0,33	2,5	A
Protease	41	0,13	0,078	0,042	0,71	0,05	60	0,54	1,6	B
Phénoloxydase	41	6,44	8,531	3,834	0,8	4,61	70	0,45	1,85	B
Phosphatase acide	42	24,91	10,428	5,797	0,69	6,48	61	0,56	1,61	B
Phosphatase alcaline	42	78,92	28,602	12,444	0,81	15,25	71	0,44	1,88	B
Temps de compostage	42	75,05	43,557	10,187	0,95	12,46	92	0,23	3,5	A

SD = standard deviation, SEC = standard error of calibration, SECV = standard error of cross-validation, Var. expl. = variance expliquée



**Figure 56** : Graphiques des prédictions en fonction des valeurs réelles pour N, C, C/N, AH, AF, AH/AF, MO, pH, respiration, activités cellulase, protéase, phénoloxydase, phosphatases acides et alcalines et temps de compostage à partir des données SPIR

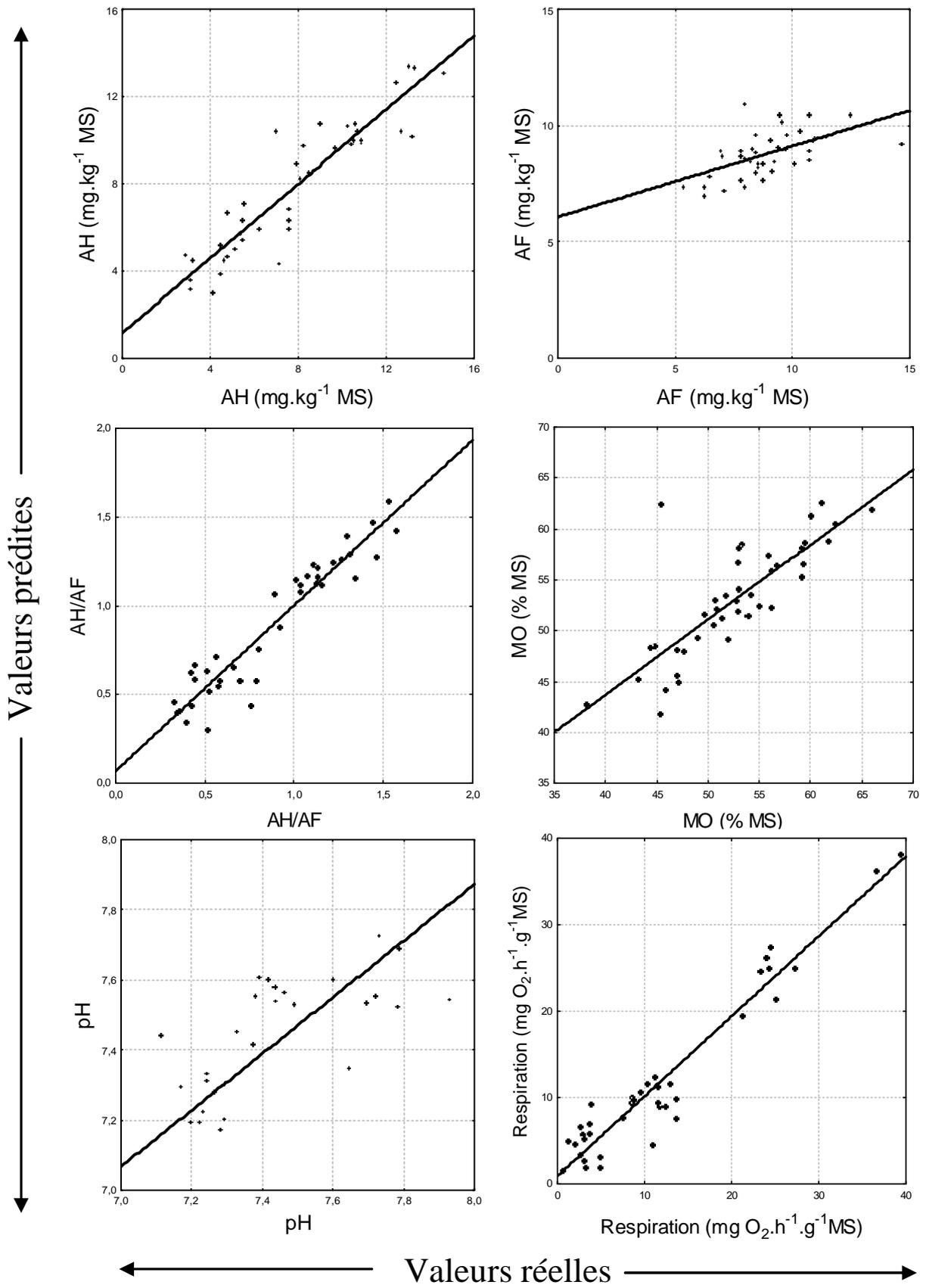


Figure 56 : suite

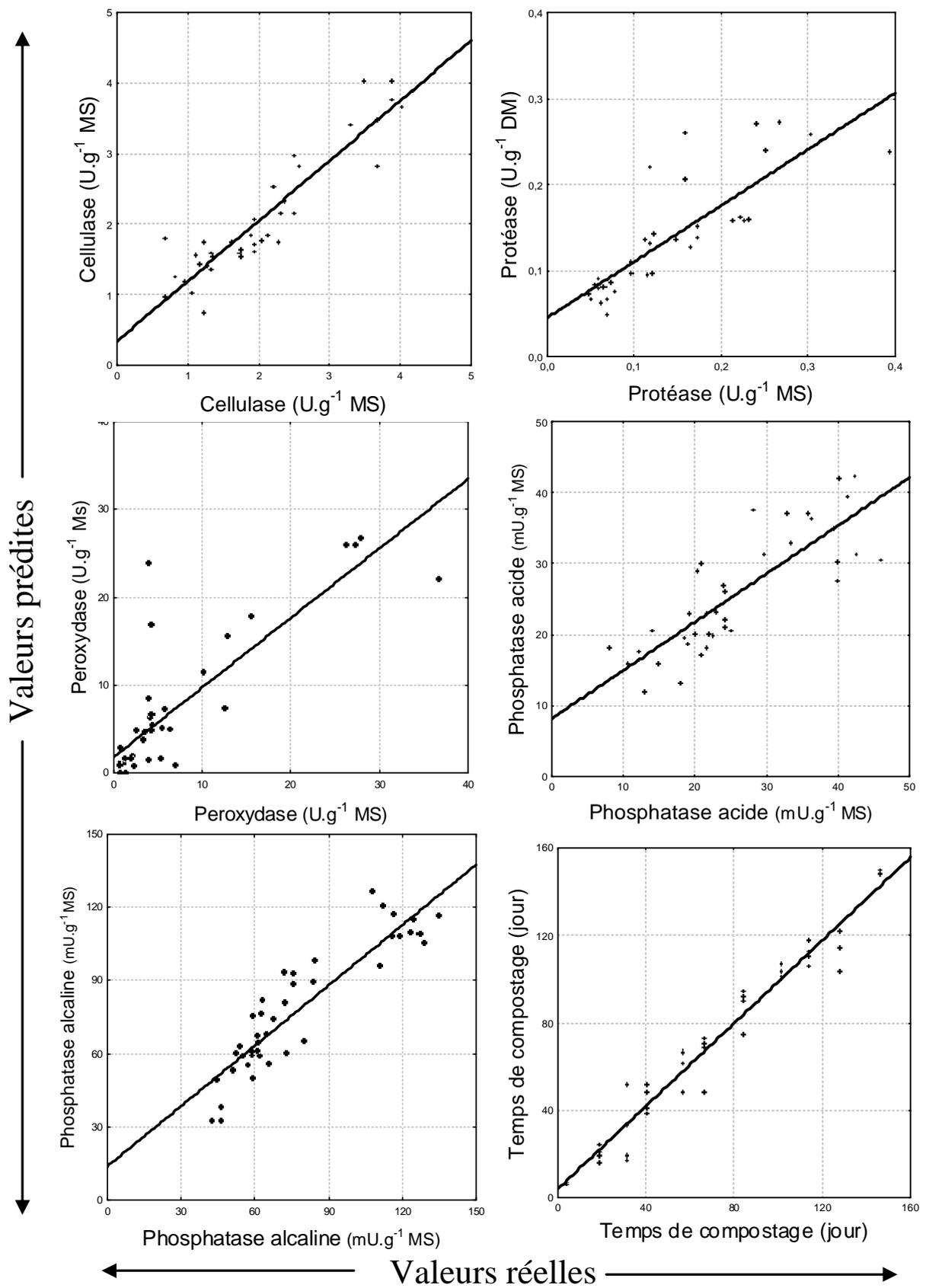


Figure 56 : suite

Pour Couteaux *et al.* (2003),  $R^2$  est le premier critère utilisé pour évaluer la qualité d'un modèle de prédiction : un  $R^2 > 0,8$  permet une prédiction quantitative alors que des modèles ayant des  $R^2$  entre 0,5 et 0,7 ne sont qu'approximatifs. Deux modèles sont en dessous du seuil de 0,7 : les modèles AF et activité phosphatase acide, ce qui est visible sur les graphiques de la Figure 56. Les autres modèles sont donc considérés comme étant de suffisamment bonne qualité pour prétendre correspondre à des prédictions quantitatives. D'excellentes calibrations ont aussi été obtenues pour 9 des modèles calibrés avec une variance expliquée de plus de 75 % pour C, N, C/N, AH, AH/AF, pH, respiration, activité cellulase et temps de compostage. Néanmoins, deux autres critères d'évaluation ont également été utilisés pour qualifier les modèles de prédiction : SEC/SD (standard error of calibration to standard deviation ratio) et SD/SECV (standard deviation to standard error of cross validation ratio). Pour les excellents modèles, SEC/SD doit être  $\leq 0,2$  (Couteaux *et al.*, 2003). Entre 0,2 et 0,5, des prédictions quantitatives sont possibles, mais un modèle ayant une valeur de SEC/SD supérieure à la valeur seuil de 0,5 doit être écarté. Le critère SD/SECV est utilisé pour évaluer la précision d'un modèle de calibration (Cozzolino & Moron, 2006). Les valeurs de SD/SECV supérieures à 2 sont considérées comme excellentes, alors que les modèles avec des valeurs inférieures à 1,4 sont considérés comme médiocres (Chang *et al.*, 2001; Chang & Laird, 2002). Ces auteurs proposent de classer les modèles de prédiction issus de calibration par SPIR en trois catégories basées sur les valeurs de SD/SECV. La catégorie A ( $SD/SECV > 2$ ) comprend les paramètres N, C, C/N, AH, AH/AF, pH, respiration, activité cellulase et temps de compostage. La catégorie B ( $1,4 < SD/SECV < 2,0$ ) comprend MO, activité protéase, peroxydase, phosphatases alcalines et acides. La catégorie C ( $R^2 < 0,5$ ;  $SD/SECV < 1,4$ ) ne comprend que le paramètre AF. Pour ces mêmes auteurs, les calibrations de la catégorie B peuvent être améliorées en utilisant différentes stratégies de calibration mais les modèles de la catégorie C ne peuvent pas être utilisés en toute confiance.

Il a déjà été montré que la SPIR peut prédire la composition chimique des sols et des litières (McLellan *et al.*, 1991; Joffre *et al.*, 1992; Gillon *et al.*, 1993; Bouchard *et al.*, 2003). Les prédictions des propriétés physiques et chimiques des sols ont été passées en revue par Viscarra Rossel *et al.* (2006) :  $C_{tot}$  (McCarty *et al.*, 2002),  $C_{inorg}$  (Chang & Laird, 2002), CEC et MO (Ben-Dor & Banin, 1995), N et pH (Reeves *et al.*, 1999), Ca (Cozzolino & Moron, 2003). De la même façon, certains paramètres biologiques ont déjà été étudiés et prédits par SPIR. La respiration dans les sols a été prédite par Palmborg & Nordgren (1993) et Mutuo *et al.* (2006). En dehors de ces études focalisées sur les sols et litières, aucun article ne relate l'essai de prédiction des substances humiques (AH ou AF), des activités protéase,

peroxydase, cellulase ou phosphatases dans les composts. Parmi les 15 paramètres calibrés, 8 sont très bien modélisés. Certains sont reconnus comme indice fiable de maturité : AH, AH/AF, C/N, respiration. Les autres, pourraient apporter une aide substantielle dans le cadre du contrôle des processus de compostage, notamment les activités cellulase et phosphatase alcaline. Le temps de compostage, très bien prédit avec un SEC de 10 est même mieux calibré que dans le cas de la banque de données du Chapitre V (SEC de 12,6). Ceci peut s'expliquer par le nombre plus élevé de stades de compostage avec 11 stades contre 6 pour la banque de données. Une SEC de 10 correspond à la possibilité donnée par la SPIR de prédire l'avancement du processus de compostage avec une erreur de seulement 10 jours.

Un avantage de notre démarche expérimentale, utilisant différents andains, est le fait que la procédure utilisée tient compte de la variabilité des intrants initiaux au sein du compost, contrairement au suivi du même andain réalisé par Malley *et al.* (2005). La procédure ainsi adoptée prend en compte la variabilité rencontrée au sein des composts et rend l'exportation des calibrations à d'autres systèmes de compostage plus réaliste. Les paramètres chimiques et biologiques utilisés comme indices de maturité et nécessitant des méthodes consommatrices de temps pour les utilisateurs sont, pour la plupart, très bien calibrés par SPIR et pourraient ainsi être remplacés par une simple analyse de SPIR. Celle-ci accompagnée par la technique PLS pourrait se substituer à l'ensemble de ces analyses. Par ailleurs outre le fait de préserver intact l'échantillon testé, la méthode ne requiert que quelques grammes de compost et peu de préparation.

### VI.3.2. Proposition d'un indice global d'évolution du compostage

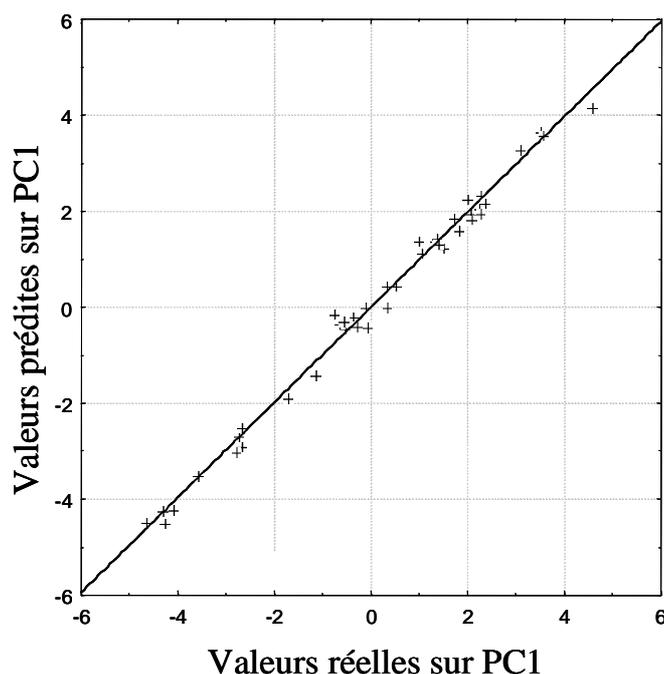
En accord avec Goyal *et al.* (2005), aucun paramètre ne peut être utilisé seul comme critère d'évaluation de la maturité des composts. Dans cette optique, notre démarche a été d'élaborer et de proposer un indice global qui prenne en compte l'ensemble des informations des paramètres isolés. L'ACP de la Figure 54 a clairement mis en évidence une distribution chronologique des composts sur PC1. En accord avec les indices reconnus de maturité sur le cercle de corrélation, elle permet ainsi de relier cet axe à l'avancement de la maturation. Les valeurs sur PC1 ont donc été calibrées par la SPIR grâce à la technique PLS. Le Tableau 24 présente les résultats statistiques de calibration de cet indice d'évolution du compostage (IEC) et la Figure 57 présente la projection des valeurs prédites en fonction des valeurs réelles pour IEC.

**Tableau 24** : Résultats des calibrations de l'indice global IEC à partir des données SPIR

Paramètres	n	SEC	R <sup>2</sup>	SECV	Var. expl. (%)	SEC/SD	SD/SECV
Indice global IEC	41	0.244	0.99	0.623	93	0.10	4.32

SD = standard deviation, SEC = standard error of calibration, SECV = standard error of cross-validation, Var. expl. = variance expliquée

La calibration de IEC est très bonne avec un R<sup>2</sup> de 0,99, une variance expliquée de 93 % et des valeurs de SD/SECV de 4,32 et de 0,10 pour SEC/SD.



**Figure 57** : Graphique des prédictions des valeurs de PC1 définissant l'indice global IEC en fonction des valeurs réelles à partir des données SPIR

L'indice IEC prend en compte l'information de 14 paramètres chimiques et biologiques. PC1 représente 42,55 % de la variance de l'ACP avec un poids de 47,6 % et 52,4 % pour, respectivement les paramètres chimiques et biologiques (Figure 58). La variance est donc bien distribuée entre les principaux paramètres puisque aucun d'entre eux n'est prépondérant. En effet, les principaux paramètres influençant l'ordination des composts sur PC1 (pH, AH, AH/AF et C/N pour les paramètres chimiques et les activités cellulase, protéase et la respiration pour les paramètres biologiques) ont une influence, reflétée par leur poids, comprise entre 9 et 11 %. Comme décrit dans les chapitres précédents, ces paramètres

sont reconnus et utilisés comme indice de maturité. Ceci pourrait permettre à IEC d'être utilisé pour évaluer de façon précise, efficace et rapide le degré de maturité des composts.

Paramètres	Poids sur PC1 (%)
N	0,6
C	4,7
C/N	9,1
AH/AF	10,1
AF	0,2
AH/AF	9,9
MO	4,0
pH	9,1
Total des paramètres chimiques	47,6
Respiration	9,8
Cellulase	10,1
Protease	9,3
Phénoloxydase	7,3
Phosphatase acide	7,3
Phosphatase alcaline	8,6
Total des paramètres biologiques	52,4

**Figure 58 :** Poids de chaque paramètre sur PC1 de l'ACP des données chimiques et biologiques des composts de la campagne B constituant l'indice global IEC

### *Conclusion chapitre VI*

Aucune méthode chimique ou biologique ne permet, par elle seule, une précise estimation de la maturité avec confiance et, bien que la stratégie SPIR-ACP permette une distinction des composts selon leur degré de maturité, les composts matures sont très proches sur la carte factorielle. Cette proximité empêche leur distinction avec précision. Par ailleurs, la stratégie SPIR-PLS produit de très bonnes prédictions pour de nombreux indices chimiques ou biologiques de maturité. Le stade de transformation des matières organiques, avec un SEC de 10 jours pour le paramètre temps de compostage, est particulièrement bien prédit. De plus, la calibration de l'indice global IEC prenant en compte l'information de 14 paramètres chimiques et biologiques est excellente. Cet indice pourrait apporter, à partir de la technologie SPIR, un nouvel indice de maturité plus fiable et plus complet que ceux déjà existants. Il est cependant nécessaire de développer cette étude en élargissant notamment le nombre d'échantillons, les stades de compostage, les intrants initiaux et les modes de compostage.

# *Conclusion générale*

---

Le compostage est un procédé prometteur de valorisation de déchets puisqu'il permet d'obtenir, à partir de déchets organiques, un produit stable, hygiénisé et pouvant être utilisé comme amendement agricole. Notre étude s'est focalisée sur un procédé de compostage particulier, le co-compostage des boues de station d'épuration et des déchets verts. En effet, ces deux types de déchets représentent une lourde charge pour l'ensemble des collectivités territoriales et donc pour la société civile. En plus du coût engendré par la purification des eaux usées, le stockage des boues qui en résultent et la collecte des déchets verts constituent, ainsi que la valorisation de ces déchets, un fardeau financier pour les collectivités, mais aussi un problème environnemental majeur.

Le compostage est le résultat de l'action de nombreux mécanismes chimiques et biologiques conduisant à des modifications de la composition et des structures chimiques qui permettent l'obtention d'une matière organique mature et stable. Le concept de maturité des composts et les méthodes de son évaluation ont été ainsi définis et discutés au cours de ce travail. Cette étude a notamment été focalisée sur les processus de minéralisation et d'humification des matières organiques. Ces processus biochimiques successifs et parfois simultanés transforment un mélange initial de déchets constitués de matière organique instable et très active en un produit final contenant une matière organique homogène, stable et mature. Ils ont été examinés à l'aide d'un ensemble de méthodes chimiques et biologiques en utilisant des composts en andains d'âges et d'états d'avancement différents.

Les méthodes « conventionnelles » ont tout d'abord confirmé l'existence des deux phases au sein du compostage : une première phase bio-oxydante suivie d'une phase de maturation.

Les diminutions brutales des paramètres MO et C/N en début de compostage ont montré une forte minéralisation des matières organiques pendant les deux premiers mois de compostage. Celle-ci a été confirmée par les activités biologiques présentant des valeurs maximales pour la respiration, les activités cellulases, phénoloxydases, phosphatases et

protéases durant les mêmes périodes, ces maxima correspondant à une élévation de la température au sein des andains mesurées après 8 jours de compostage. La RMN  $^{13}\text{C}$  du solide a aussi indiqué que, pendant les deux premiers mois de compostage intervenait une intense minéralisation caractérisée par une diminution drastique de l'intensité des pics à 35 et 40 ppm. Ces pics assignés aux  $\text{CH}_2$  des protéines et des lipides, constituants majeurs des boues de stations d'épuration, semblent indiquer que les micro-organismes utilisent alors préférentiellement les constituants les plus facilement métabolisables. A l'inverse, les pics caractéristiques des matières plus récalcitrantes telles que les composés aromatiques et phénoliques ont eu tendance proportionnellement à augmenter pendant la même période. Les dénombrements microbiens ont montré que la première période du compostage est dominée par une microflore bactérienne et que l'apparition massive de la microflore fongique et des actinomycètes ne se produit qu'après un mois. L'étude des profils métaboliques bactériens (Biolog Ecoplate) a indiqué que les composts les plus « jeunes » sont fortement caractérisés par une tendance à l'utilisation préférentielle des substrats les plus simples. En effet, l'ACP concernant les substrats les plus caractéristiques, quant à leur utilisation, du temps de compostage montre que le L-méthyl-D-glucoside et le D-mannitol sont plutôt utilisés avant 67 jours, alors que des composés plus difficilement dégradables tels que les diacides et les polyols ne sont fortement utilisés qu'après 67 jours. L'ensemble de ces indices situe les dégradations les plus intenses dans le premier mois du compostage. Par ailleurs, cette forte activité biologique engendre une forte élévation de température jusqu'à  $70^\circ\text{C}$  produisant ainsi une hygiénisation des matières.

Les intenses minéralisations en début de compostage diminuent le volume des déchets initiaux, mais un deuxième processus est responsable des qualités du compost final : l'humification. Cette transformation des matières organiques s'intensifie lorsque les phénomènes de minéralisation se réduisent, *i.e.* après 1 à 2 mois de compostage, comme l'a montré la stabilisation des valeurs de MO et du rapport C/N après 57 jours. L'augmentation des teneurs en AH a également montré que ces composés ont tendance à se former massivement à partir de deux mois de compostage, *i.e.* après la phase de minéralisation intense. De même, la diminution des AF et l'augmentation conséquente du rapport AH/AF ont semblé indiquer une condensation des substances humiques. L'humification a aussi été révélée par spectroscopie UV-visible avec les augmentations des rapports  $Q_2/Q_6$  et  $Q_4/Q_6$  pendant le compostage. En effet, les absorbances entre 260 - 280 nm ( $Q_2$ ) et 460 et 480 nm ( $Q_4$ ) sont caractéristiques des matières organiques initiales, *i.e.* peu transformées, alors que la région 600 - 670 nm ( $Q_6$ ) correspond à des matières fortement humifiées et condensées. La

RMN  $^{13}\text{C}$  du solide a montré un accroissement de l'aromaticité à travers l'augmentation des  $\text{C}_{\text{aromatique}}$  et des  $\text{C}_{\text{phénolique}}$  et la diminution des  $\text{C}_{\text{alkyl}}$ . Cet indice d'aromaticité procurant une vision globale de l'évolution des composés aromatiques a permis de caractériser l'humification à partir de leur accumulation. De même, bien que la teneur en lignine estimée par RMN évolue très peu pendant le compostage, la diminution du rapport S/G (sous unités Syringyle et Guaiacyle de la lignine) a montré que ce polymère formé d'unités phénylpropane subit des modifications profondes de sa structure. La diminution du rapport S/G est largement associée aux champignons de la pourriture blanche et est expliquée par une dégradation préférentielle par les micro-organismes des unités syringyle par rapport aux unités guaiacyle. Sur les unités guaiacyle peuvent s'établir des liaisons C-C en  $\text{C}_5$ , (position libre *i.e.* sans groupement méthoxyle), augmentant ainsi leur degré de condensation et les rendant plus résistantes aux attaques fongiques. La RMN a aussi montré que même si les teneurs en  $\text{C}_{\text{O-alkyle}}$  augmentent légèrement pendant le compostage, les polysaccharides caractéristiques de ce type de carbone tels que la cellulose et les hémicelluloses subissent de fortes modifications. Les deux pics spécifiques de la cellulose cristalline et amorphe ont présenté une diminution, traduisant une dégradation de ce polymère. De plus, la proportion de cellulose présentant le degré d'organisation le plus élevé a augmenté entre 4 et 146 jours de compostage, la forme amorphe (plus facile à dégrader) diminuant plus vite que la forme cristalline. Par ailleurs, les hémicelluloses subissent également des modifications. Celles-ci sont symbolisées par la diminution des signaux à 21 ppm et à 173 ppm correspondant aux méthyles et aux carboxyles des groupements acétyl des hémicelluloses. Les mesures par RMN témoignent des modifications et des dégradations subies par les polysaccharides pendant le compostage. Ces modifications coïncident avec les augmentations de populations de la microflore fongique et des actinomycètes se produisant après un mois de compostage. Les mêmes déductions ont pu être dégagées des profils métaboliques (microplaques Eco et FF) révélant une plus grande diversité microbienne après 57 jours de compostage. Ceci pourrait être expliqué par la raréfaction des composés facilement dégradables au cours de la phase de maturation, ce qui entraîne une nécessaire diversification des métabolismes conduisant ainsi à une augmentation du nombre d'espèces et donc de la diversité microbienne. Cette hypothèse pourrait être vérifiée en étudiant la structure génétique des populations bactériennes et fongiques grâce, par exemple, aux profils ARISA. De plus, parmi les substrats les plus influents sur l'axe temps de la carte factorielle de l'ACP des données relatives aux profils métaboliques fongiques (Figure 45), les composés tels que le turanose et le xylitol (pouvant provenir de la dégradation des hémicelluloses) ou l'acide quinique (composé phénolique)

n'ont été fortement utilisés dans le système Biolog qu'après deux mois de compostage, témoignant ainsi des modifications subies par les polysaccharides durant la phase de maturation.

A la lumière de l'ensemble des résultats, la maturation d'un compost semble clairement dirigée vers l'élaboration d'une matière organique humifiée. Cependant, l'obtention d'un produit utilisable en agriculture, sans danger pour la santé ou pour l'environnement, requiert de posséder des méthodes permettant sa caractérisation. Ainsi, le second objectif de ce travail a été la recherche de critères efficaces et simples de la maturité des composts. Certains critères comme la teneur en MO, le rapport C/N et la respiration permettent de caractériser la phase bio-oxydante avec précision. Ceux-ci n'ont, cependant, pas permis une claire distinction des échantillons les plus avancés dans le processus de compostage. Les spectres UV d'extraits alcalins de composts, l'extraction des substances humiques (AH et AF) et le rapport AH/AF apportent des informations sur le degré d'humification. Ces trois critères présentent l'avantage de discriminer des composts durant la phase de maturation, contrairement aux paramètres MO, C/N ou à la respiration caractérisés par une faible sensibilité durant cette période. Suivant ces constats, l'estimation des substances humiques constitue l'indice « conventionnel » de la maturité le plus simple et le plus efficace. Les autres techniques utilisées, la RMN du  $^{13}\text{C}$ , les dénombrements microbiens et les profils métaboliques, ont l'avantage d'apporter des informations très détaillées sur les différentes phases du compostage. Par exemple, la RMN est une méthode très puissante qui permet de révéler et d'expliquer les subtilités inhérentes aux types de compostage et/ou aux matières initiales utilisées. Cependant, ces trois méthodes n'ont pas les caractéristiques indispensables d'une utilisation en routine dans un centre de compostage, car elles sont onéreuses et nécessitent des temps d'analyse de plusieurs heures voire plusieurs jours. Les activités enzymatiques ont l'avantage de représenter directement les transformations biochimiques au sein du compost, mais leur information est limitée au nombre de types d'enzymes étudiées et elles nécessitent l'obtention d'une dynamique des activités enzymatiques pendant le compostage, ce qui les rend peu pratiques dans le cadre d'une utilisation en routine. Au final, aucune méthode simple, utilisée de manière isolée, ne permet la parfaite caractérisation de la maturité des composts quel que soit son degré d'avancement.

L'intérêt d'utiliser des techniques variées est l'acquisition d'un maximum de données utiles pour caractériser les mécanismes du compostage et en évaluer sa qualité. Parmi les techniques employées, aucune n'est totalement satisfaisante et l'élaboration d'une méthode plus pratique pour la détermination du degré de maturité d'un compost amène à considérer à

la fois sa simplicité, sa facilité d'utilisation et l'acquisition d'un maximum de données. L'établissement d'une banque de données de 432 composts a, dans un premier temps, démontré l'efficacité de la SPIR pour distinguer des composts en fonction de leur composition chimique, et ceci quel que soit leur degré d'avancement. Le stade de compostage a ainsi pu être prédit, grâce à des calibrations par la technique PLS, avec une erreur de 10 jours sur les 150 jours que dure le compostage (campagne B). Les différents paramètres chimiques et biologiques préalablement étudiés ont donc été prédits par SPIR. Ces prédictions ont été très bonnes pour de nombreux paramètres tels que AH, AH/AF, C/N, la respiration, le pH, les activités cellulases et le temps de compostage. Il est ainsi, par exemple, possible de prédire les valeurs du rapport AH/AF avec précision et ainsi de déterminer le degré de maturation d'un compost à partir de données SPIR.

Dans un deuxième temps et dans un esprit de synthèse, un nouvel indice d'évolution du compostage (IEC) a été proposé. Celui-ci est issu de l'ensemble des informations fournies par les 14 paramètres chimiques et biologiques étudiés. Cette globalisation de l'information à partir d'une analyse multivariée a l'avantage de prendre en compte l'ensemble des données. La carte factorielle produite par cette ACP (Figure 54) comprend un premier axe (42,55 % de la variance) offrant la possibilité de distinguer les composts suivant leur stade de compostage de façon précise, et ce, quel que soit le temps de compostage. Cette discrimination s'appuie sur 14 paramètres expérimentaux caractéristiques des mécanismes du compostage et de son avancement, ce qui attribue un degré de confiance élevé à cet indice. L'intérêt de IEC est cependant atténué par l'obligation de réaliser 14 mesures sur un échantillon de compost. Pour pallier à cette imperfection, le couplage entre cet indice et la SPIR a été effectué grâce à la calibration de l'axe représentant le temps de compostage sur la carte factorielle. La prédiction de IEC a été excellente (SD/SECV : 4,32 et SEC/SD : 0,10) et le stade de compostage peut ainsi être prédit aisément, rapidement et de façon précise.

Cependant, bien que la maturité soit un facteur reconnu de la qualité des composts, il existe d'autres impératifs. En effet, des exigences sanitaires, phytosanitaires et des connaissances de la valeur des composts en tant qu'agent d'amendement et de structuration des sols sont émises par ses utilisateurs. Ainsi, la qualité s'avère être un concept abstrait, n'ayant pas de réalité lorsqu'elle est décrite par des paramètres avec des valeurs strictes de maturité à atteindre, mais devrait plutôt être définie en terme de rendement de production. Il serait donc judicieux d'insérer, dans notre indice global, d'autres paramètres relatifs à la qualité des composts tels que la vitesse de minéralisation de l'azote, le potentiel

d'amendement, des tests de phytotoxicité, des essais en champs, etc. Ces données pourraient être calibrées par SPIR et pourraient ainsi augmenter l'intérêt de l'IEC.

Plus concrètement, les données acquises dans ce travail vont nous permettre de mettre au point et d'optimiser un nouveau concept de réacteur, spécialement élaboré pour le compostage des boues de stations d'épuration et des déchets verts : le procédé CESAM. Ce **Composteur En Silo Aérateur-Mélangeur**, protégé par le brevet français n°0309381 du 30 juillet 2003, est basé sur un système d'aération et de brassage forcé qui permet à la fois d'optimiser le mélange dans le silo-réacteur, d'optimiser les échanges gaz-solide, de recueillir les jus de fermentation et de les recycler, de piloter en fonction de mesures en temps réel les conditions de fermentation, et par là de maîtriser les processus et les guider de façon à aboutir au produit désiré. Le procédé CESAM permet de réduire la durée des transformations à quelques semaines et un traitement modulaire par lots. Il offre, par ailleurs, la possibilité de fabriquer des composts « à la carte » *i.e.* correspondant exactement aux besoins des utilisateurs. En effet, de nombreux capteurs physico-chimiques sur le réacteur apportent des informations en temps réel sur le procédé et sur l'état du compost. Couplé à notre stratégie alliant IEC et SPIR, le procédé CESAM pourrait être optimisé et mettre à disposition, dans le domaine d'intérêt, des composts de qualité définie en fonction de leur utilisation en cultures agricoles (viticulture, culture maraîchère, céréalière...), en zones pâturées ou forestières et suivant des besoins spécifiques tels que l'enrichissement en éléments fertilisants, une modification du pH, la restructuration des sols ou la réduction d'apports d'engrais minéraux.

# Références bibliographiques

---

- Adani, F., Lozzi, P. & Genevini, P. 2001. Determination of biological stability by oxygen uptake on municipal solid waste and derived products. *Compost Science and Utilization* **9**, 163-178.
- Adani, F., Ubbiali, C. & Generini, P. 2006. The determination of biological stability of composts using the Dynamic Respiration Index: The results of experience after two years. *Waste Management* **26**, 41-48.
- ADAS Consulting Limited. 2005. *Assessment of options and requirements for stability and maturity testing of composts. The Waste and Resources Action Programme*, The Waste and Resources Action Programme, Oxon.
- ADEME. 2000. *Les déchets municipaux: les chiffres clés 2e édition*.
- ADEME. 2006. *Les déchets en France - chiffres clés - décembre 2006*.
- AFNOR. 2002. *French Standard U 44-095. Organic soils improvers-composts containing substances essential to agriculture, stemming from water treatment*, AFNOR, Saint-Denis-la-Plaine, France.
- Albrecht, R., Joffre, R., Gros, R., Le Petit, J., Terrom, G. & Périsol, C. 2007. Efficiency of near-infrared reflectance spectroscopy to assess and predict the stage of transformation of organic matter in the composting process. *Bioresource Technology* **In Press**.
- Albuquerque, J. A., Gonzalvez, J., Garcia, D. & Cegarra, J. 2006. Measuring detoxification and maturity in compost made from "alperujo", the solid by-product of extracting olive oil by the two-phase centrifugation system. *Chemosphere* **64**, 470-477.
- Al-Daher, R., Al-Awadhi, N. & El-Nawawy, A. 1998. Bioremediation of damaged desert environment using the windrow soil pile system in Kuwait. *Environment International* **24**, 175-180.
- Almendros, G., Dorado, J., Gonzalez-Vila, F. J., Blanco, M. J. & Lankes, U. 2000. <sup>13</sup>C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. *Soil Biology and Biochemistry* **32**, 793-804.
- Amine-Khodja, A., Trubetskaya, O., Trubetskoj, O., Cavani, L., Ciavatta, C., Guyot, G. & Richard, C. 2006. Humic-like substances extracted from composts can promote the photodegradation of Irgarol 1051 in solar light. *Chemosphere* **62**, 1021-1027.

- Amir, S. 2005. Contribution à la valorisation de boues de stations d'épuration par compostage : devenir des micropolluants métalliques et organiques et bilan humique du compost, Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomie, Institut National Polytechnique (ENSAT-INP), Toulouse, France, 341p.
- Amir, S., Hafidi, M., Lemee, L., Merlina, G., Guiresse, M., Pinelli, E., Revel, J. C., Bailly, J. R. & Ambles, A. 2006. Structural characterization of humic acids, extracted from sewage sludge during composting, by thermochemolysis-gas chromatography-mass spectrometry. *Process Biochemistry* **41**, 410-422.
- Amlinger, F., Gotz, B., Dreher, P., Geszti, J. & Weissteiner, C. 2003. Nitrogen in biowaste and yard waste compost: dynamics of mobilisation and availability--a review. *European Journal of Soil Biology* **39**, 107-116.
- Ander, P., Mishra, C., Farrell, R. L. & Eriksson, K.-E. L. 1990. Redox reactions in lignin degradation: interactions between laccase, different peroxidases and cellobiose: quinone oxidoreductase. *Journal of Biotechnology* **13**, 189-198.
- Andreux, F. & Munier-Lamy, C. 1994. Génèse et propriétés des substances humiques, In *Constituants et Propriétés des sols Vol. 2*. M. Bonneau et B. Souchier eds., pp. 109-134, Masson eds, Paris.
- Antizar-Ladislao, B., Lopez-Real, J. & Beck, A. J. 2006. Investigation of organic matter dynamics during in-vessel composting of an aged coal-tar contaminated soil using fluorescence excitation-emission spectroscopy. *Chemosphere* **64**, 839-847.
- Avnimelech, Y., Bruner, M., Ezrony, I., Sela, R. & Kochba, M. 1996. Stability indexes for municipal solid waste compost. *Compost Science & Utilization* **4**, 13-20.
- Ayers, A. R., Ayers, S. B. & Eriksson, K.-E. 1978. Cellobiose Oxidase, Purification and Partial Characterization of a Hemoprotein from *Sporotrichum pulverulentum*. *European Journal of Biochemistry* **90**, 171-181.
- Baddi, G. A., Albuquerque, J. A., Gonzalez, J., Cegarra, J. & Hafidi, M. 2004. Chemical and spectroscopic analyses of organic matter transformations during composting of olive mill wastes. *International Biodeterioration & Biodegradation* **54**, 39-44.
- Banoub, J. H. & Delmas, M. 2003. Structural elucidation of the wheat straw lignin polymer by atmospheric pressure chemical ionization tandem mass spectrometry and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry* **38**, 900-903.
- Barrena Gomez, R., Vazquez Lima, F., Gordillo Bolasell, M. A., Gea, T. & Sanchez Ferrer, A. 2005. Respirometric assays at fixed and process temperatures to monitor composting process. *Bioresource Technology* **96**, 1153-1159.
- Bayer, E. A., Shimon, L. J. W., Shoham, Y. & Lamed, R. 1998. Cellulosomes--Structure and Ultrastructure. *Journal of Structural Biology* **124**, 221-234.

- Beck-Friis, B., Smars, S., Jonsson, H. & Kirchmann, H. 2001. SE--Structures and Environment: Gaseous Emissions of Carbon Dioxide, Ammonia and Nitrous Oxide from Organic Household Waste in a Compost Reactor under Different Temperature Regimes. *Journal of Agricultural Engineering Research* **78**, 423-430.
- Belete, L., Egger, W., Neunhauserer, C., Caballero, B. & Insam, H. 2001. Can community level physiological profiles be used for compost maturity testing? *Compost Science & Utilization* **9**, 6-18.
- Ben-Dor, E. & Banin, A. 1995. Near-infrared analysis as a rapid method to simultaneously evaluate several soil properties. *Soil Science Society of America Journal* **59**, 364-372.
- Ben-Dor, E., Inbar, Y. & Chen, Y. 1997. The reflectance spectra of organic matter in the visible near-infrared and short wave infrared region (400-2500 nm) during a controlled decomposition process. *Remote Sensing of Environment* **61**, 1-15.
- Bernal, M. P., Paredes, C., Sanchez-Monedero, M. A. & Cegarra, J. 1998. Maturity and stability parameters of composts prepared with a wide range of organic wastes. *Bioresource Technology* **63**, 91-99.
- Bernal, M. P., Navarro, A. F., Sanchez-monedero, M. A., Roig, A. & Cegarra, J. 1998. Influence of sewage sludge compost stability and maturity on carbon and nitrogen mineralization in soil. *Soil Biology and Biochemistry* **30**, 305-313.
- Bernal, M. P., Sanchez-Monedero, M. A., Paredes, C. & Roig, A. 1998. Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **69**, 175-189.
- Bernards, M. A. 2002. Demystifying suberin. *Canadian Journal of Botany* **80**, 227-240.
- Blanc, M., Marilley, L., Beffa, T. & Aragno, M. 1999. Thermophilic bacterial communities in hot composts as revealed by most probable number counts and molecular (16S rDNA) methods. *FEMS Microbiology Ecology* **28**, 141-149.
- Blanchette, R. A. 1995. Degradation of the Lignocellulose Complex in Wood. *Canadian Journal of Botany* **73**, S999-S1010.
- Bolan, N. S., Adrianob, D. C., Natesana, R. & Koob, B.-J. 2003. Effects of Organic Amendments on the Reduction and Phytoavailability of Chromate in Mineral Soil. *Journal of Environmental Quality* **32**, 120-128.
- Bonneau, M. & Souchier, B. 1980. *Constituants et Propriétés du Sol*, Bonneau et B. Souchier eds, Masson eds, pp. 665, Paris.
- Bouchard, V., Gillon, D., Joffre, R. & Lefeuvre, J.-C. 2003. Actual litter decomposition rates in salt marshes measured using near-infrared reflectance spectroscopy. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* **290**, 149-163.

- Boulter-Bitzer, J. I., Trevors, J. T. & Boland, G. J. 2006. A polyphasic approach for assessing maturity and stability in compost intended for suppression of plant pathogens. *Applied Soil Ecology* **34**, 65-81.
- Bourbonnais, R. & Paice, M. G. 1990. Oxidation of non-phenolic substrates : An expanded role for laccase in lignin biodegradation. *FEBS Letters* **267**, 99-102.
- Breitung, J., BrunsNagel, D., Steinbach, K., Kaminski, L., Gemsa, D. & vonLow, E. 1996. Bioremediation of 2,4,6-trinitrotoluene-contaminated soils by two different aerated compost systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* **44**, 795-800.
- Bresson, L. M., Koch, C., Le Bissonnais, Y., Barriuso, E. & Lecomte, V. 2001. Soil surface structure stabilization by municipal waste compost application. *Soil Science Society of America Journal* **65**, 1804-1811.
- Brinkmann, K., Blaschke, L. & Polle, A. 2002. Comparison of different methods for lignin determination as a basis for calibration of near-infrared reflectance spectroscopy and implications of lignoproteins. *Journal of Chemical Ecology* **28**, 2483-2501.
- Brinton, W. F., Evans, E., Droffner, M. L. & Brinton, R.B. 1995. Standardized Test for Evaluation of Compost Self-Heating. *Biocycle* **36**, 64-69.
- Bruns-Nagel, D., Drzyzga, O., Steinbach, K., Schmidt, T. C., von Low, E., Gorontzy, T., Blotevogel, K. H. & Gemsa, D. 1998. Anaerobic/aerobic composting of 2,4,6-trinitrotoluene-contaminated soil in a reactor system. *Environmental Science & Technology* **32**, 1676-1679.
- Calace, N., Petronio, B. M., Persia, S., Pietroletti, M. & Pacioni, D. 2007. A new analytical approach for humin determination in sediments and soils. *Talanta* **71**, 1444-1448.
- Campitelli, P. A., Velasco, M. I. & Ceppi, S. B. 2006. Chemical and physicochemical characteristics of humic acids extracted from compost, soil and amended soil. *Talanta* **69**, 1234-1239.
- Canet, R. & Pomares, F. 1995. Changes in physical, chemical and physico-chemical parameters during the composting of municipal solid wastes in two plants in Valencia. *Bioresource Technology* **51**, 259-264.
- Castaldi, P., Alberti, G., Merella, R. & Melis, P. 2005. Study of the organic matter evolution during municipal solid waste composting aimed at identifying suitable parameters for the evaluation of compost maturity. *Waste Management* **25**, 209-213.
- Cayuella, M. L., Sanchez-Monedero, M. A. & Roig, A. 2006. Evaluation of two different aeration systems for composting two-phase olive mill wastes. *Process Biochemistry* **41**, 616-623.
- Chang, C. W. & Laird, D. A. 2002. Near-infrared reflectance spectroscopic analysis of soil C and N. *Soil Science* **167**, 110-116.

- Chang, C. W., Laird, D. A., Mausbach, M. J. & Hurburgh C.R, Jr. 2001. Near-infrared reflectance spectroscopy - Principal components regression analyses of soil properties. *Soil Science Society of America Journal* **65**, 480-490.
- Changa, C. M., Wang, P., Watson, M. E., Hoitink, H. A. J. & Michel Jr, F. C. 2003. Assessment of the reliability of a commercial maturity test kit for composted manures. *Compost Science and Utilization* **11**, 125-143.
- Charnay, F. 2005. Compostage des déchets urbains dans les Pays en Développement. Elaboration d'une démarche méthodologique pour une production pérenne de compost, Thèse de Doctorat, Université de Limoges, 277p.
- Chavira, J. R., Burnett, T. J. & Hageman, J. H. 1984. Assaying proteinases with azocoll. *Analytical Biochemistry* **136**, 446-450.
- Chefetz, B., Chen, Y., Clapp, C. E. & Hatcher, P. G. 2000. Characterization of organic matter in soils by thermochemolysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Soil Science Society of America Journal* **64**, 583-589.
- Chefetz, B., Hatcher, P. G., Hadar, Y. & Chen, Y. N. 1996. Chemical and biological characterization of organic matter during composting of municipal solid waste. *Journal of Environmental Quality* **25**, 776-785.
- Chen, L., Dick, W. A., Streeter, J. G. & Hoitink, H. A. J. 1996. Ryegrass utilization of nutrients released from composted biosolids and cow manure. *Compost Science & Utilization* **4**, 73-83.
- Chen, Y., Inbar, Y., Hadar, Y. & Malcolm, R. L. 1989. Chemical properties and solid-state CPDAS 13C-NMR of composted organic matter. *The Science of The Total Environment* **81-82**, 201-208.
- Chen, Y., Senesi, N. & Schnitzer, M. 1977. Information Provided on Humic Substances by E4-E6 Ratios. *Soil Science Society of America Journal* **41**, 352-358.
- Chen, Y. N. 2003. Nuclear magnetic resonance, infra-red and pyrolysis: Application of spectroscopic methodologies to maturity determination of composts. *Compost Science & Utilization* **11**, 152-168.
- Chikae, M., Kerman, K., Nagatani, N., Takamura, Y. & Tamiya, E. 2007. An electrochemical on-field sensor system for the detection of compost maturity. *Analytica Chimica Acta* **581**, 364-369.
- Chin, Y. P., Alken, G. & O'Loughlin, E. 1994. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environmental Science and Technology* **28**, 1853-1858.
- Conte, P. & Piccolo, A. 1999. Conformational arrangement of dissolved humic substances. Influence of solution composition on association of humic molecules. *Environmental Science & Technology* **33**, 1682-1690.

- Conte, P., Spaccini, R. & Piccolo, A. 2004. State of the art of CPMAS  $^{13}\text{C}$ -NMR spectroscopy applied to natural organic matter. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy* **44**, 215-223.
- Cotxarrera, L., Trillas-Gay, M. I., Steinberg, C. & Alabouvette, C. 2002. Use of sewage sludge compost and *Trichoderma asperellum* isolates to suppress *Fusarium* wilt of tomato. *Soil Biology and Biochemistry* **34**, 467-476.
- Couteaux, M.-M., Berg, B. & Rovira, P. 2003. Near infrared reflectance spectroscopy for determination of organic matter fractions including microbial biomass in coniferous forest soils. *Soil Biology and Biochemistry* **35**, 1587-1600.
- Couteaux, M.-M., Sarmiento, L., Herve, D. & Acevedo, D. 2005. Determination of water-soluble and total extractable polyphenolics in biomass, necromass and decomposing plant material using near-infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *Soil Biology and Biochemistry* **37**, 795-799.
- Cozzolino, D. & Moron, A. 2003. The potential of near-infrared reflectance spectroscopy to analyse soil chemical and physical characteristics. *Journal of Agricultural Science* **140**, 65-71.
- Cozzolino, D. & Moron, A. 2006. Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. *Soil and Tillage Research* **85**, 78-85.
- Crecchio, C., Curci, M., Pizzigallo, M. D. R., Ricciuti, P. & Ruggiero, P. 2004. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity. *Soil Biology and Biochemistry* **36**, 1595-1605.
- Criquet, S., Ferre, E., Farnet, A. M. & Le Petit, J. 2004. Annual dynamics of phosphatase activities in an evergreen oak litter: influence of biotic and abiotic factors. *Soil Biology and Biochemistry* **36**, 1111-1118.
- Criquet, S., Joner, E. J. & Leyval, C. 2001. 2,7-Diaminofluorene is a sensitive substrate for detection and characterization of plant root peroxidase activities. *Plant Science* **161**, 1063-1066.
- Cunha-Queda, A. C., Ribeiro, H. M., Ramos, A. & Cabral, F. In Press. Study of biochemical and microbiological parameters during composting of pine and eucalyptus bark. *Bioresource Technology*.
- De Bertoldi, M., Vallini, G. & Pera, A. 1983. The biology of composting: A review. *Waste Management & Research* **1**, 157-176.
- De La Horra, A. M., Defrieri, R., Jimenez, M. P. & Palma, R. M. 2005. Evolution of alkaline phosphatase and protease activities, total organic carbon and  $\text{CO}_2$  evolved during composting. *Agrochimica* **49**, 22-28.
- Deng, S. P. & Tabatabai, M. A. 1994. Cellulase activity of soils. *Soil Biology and Biochemistry* **26**, 1347-1354.

- Deportes, I., Benoit-Guyod, J.-L. & Zmirou, D. 1995. Hazard to man and the environment posed by the use of urban waste compost: a review. *Science of The Total Environment* **172**, 197-222.
- Deportes, I., Benoit-Guyod, J. L., Zmirou, D. & Bouvier, M. C. 1998. Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) composting. *Journal of Applied Microbiology* **85**, 238-246.
- Dignac, M. F., Houot, S., Francou, C. & Derenne, S. 2005. Pyrolytic study of compost and waste organic matter. *Organic Geochemistry* **36**, 1054-1071.
- Dignac, M. F., Urbain, V., Rybacki, D., Bruchet, A., Snidaro, D. & Scribe, P. 1998. Chemical description of extracellular polymers: implication on activated sludge floc structure. *Water Science and Technology* **38**, 45-53.
- Dix, N. J. & Webster, J. 1995. *Fungal Ecology*, Chapman & Hall eds, pp. 549, Cambridge.
- Domeizel, M., Khalil, A. & Prudent, P. 2004. UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost. *Bioresource Technology* **94**, 177-184.
- Eivazi, F. & Tabatabai, M. A. 1977. Phosphatases in soils. *Soil Biology and Biochemistry* **9**, 167-172.
- El-Abagy, M. M. & El-Zanfaly, H. T. 1984. Bacterial removal by anaerobic digestion. *Environment International* **10**, 251-258.
- Elvidge, C. D. 1990. Visible and near-Infrared Reflectance Characteristics of Dry Plant Materials. *International Journal of Remote Sensing* **11**, 1775-1795.
- Emino, E. R. & Warman, P. R. 2004. Biological assay for compost quality. *Compost Science and Utilization* **12**, 342-348.
- Erhart, E., Burian, K., Hartl, W. & Stich, K. 1999. Suppression of *Pythium ultimum* by biowaste composts in relation to compost microbial biomass, activity and content of phenolic compounds. *Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift* **147**, 299-305.
- Falissard, B. 1996. *Comprendre et utiliser les statistiques dans les sciences du vivant*, Masson eds, pp. 314, Paris.
- Feudale, R. N., Woody, N. A., Tan, H., Myles, A. J., Brown, S. D. & Ferre, J. 2002. Transfer of multivariate calibration models: a review. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* **64**, 181-192.
- Finstein, M. S. & Morris, M. L. 1975. Microbiology of municipal solid waste composting. *Advances in Applied Microbiology* **19**, 113-51.
- Fortuna, A., Harwood, R., Kizilkaya, K. & Paul, E. A. 2003. Optimizing nutrient availability and potential carbon sequestration. *Soil Biology & Biochemistry* **35**, 1005-1013.

- Francou, C. 2003. Stabilisation de la matière organique au cours du compostage de déchets urbains : Influence de la nature des déchets et du procédé de compostage - Recherche d'indicateurs pertinents, Thèse de Doctorat, Institut national agronomique Paris-Grignon, 289p.
- Franke, R., Briesen, I., Wojciechowski, T., Faust, A., Yephremov, A., Nawrath, C. & Schreiber, L. 2005. Apoplastic polyesters in Arabidopsis surface tissues - A typical suberin and a particular cutin. *Phytochemistry* **66**, 2643-2658.
- Forster, J. C., W. Zech, and E. Würdinger. 1993. Comparison of chemical and microbial methods for the characterization of the maturity of composts from contrasting sources. *Biology and Fertility of Soils* **16**, 93-99.
- Fukumoto, Y., Osada, T., Hanajima, D. & Haga, K. 2003. Patterns and quantities of NH<sub>3</sub>, N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> emissions during swine manure composting without forced aeration--effect of compost pile scale. *Bioresource Technology* **89**, 109-114.
- Garcia-Ciudad, A., Ruano, A., Becerro, F., Zabalgogezcoa, I., Vazquez de Aldana, B. R. & Garcia-Criado, B. 1999. Assessment of the potential of NIR spectroscopy for the estimation of nitrogen content in grasses from semiarid grasslands. *Animal Feed Science and Technology* **77**, 91-98.
- Garcia, C., Hernandez, T., Costa, C., Ceccanti, B., Masciandaro, G. & Ciardi, C. 1993. A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes. *Bioresource Technology* **44**, 17-23.
- Garciacriado, B. & Garciaciudad, A. 1990. Application of near-Infrared Reflectance Spectroscopy to Protein-Analysis of Grassland Herbage Samples. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **50**, 479-484.
- Gariglio, N. F., Buyatti, M. A., Pilatti, R. A., Gonzalez Rossia, D. E. & Acosta, M. R. 2002. Use of a germination bioassay to test compost maturity of willow (*Salix sp.*) sawdust. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* **30**, 135-139.
- Garland, J. L. 1996. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. *Soil Biology and Biochemistry* **28**, 223-230.
- Garland, J. L. 1997. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* **24**, 289-300.
- Garland, J. L. & Mills, A. L. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied & Environmental Microbiology* **57**, 2351-2359.
- Gerhard, G. 1979. *Bacterial metabolism*, M. P. Starr eds, pp. 281, New York.
- Ghosh, K. & Schnitzer, M. 1980. Macromolecular Structures of Humic Substances. *Soil Science* **129**, 266-276.

- Gillon, D., Joffre, R. & Dardenne, P. 1993. Predicting the stage of decay of decomposing leaves by near infrared reflectance spectroscopy. *Canadian Journal of Forest Research* **23**, 2552-2559.
- Glimm, E., Heuer, H., Engelen, B., Smalla, K. & Backhaus, H. 1997. Statistical comparisons of community catabolic profiles. *Journal of Microbiological Methods* **30**, 71-80.
- Goyal, S., Dhull, S. K. & Kapoor, K. K. 2005. Chemical and biological changes during composting of different organic wastes and assessment of compost maturity. *Bioresource Technology* **96**, 1584-1591.
- Graca, J., Schreiber, L., Rodrigues, J. & Pereira, H. 2002. Glycerol and glyceryl esters of [omega]-hydroxyacids in cutins. *Phytochemistry* **61**, 205-215.
- Grayston, S. J., Campbell, C. D., Bardgett, R. D., Mawdsley, J. L., Clegg, C. D., Ritz, K., Griffiths, B. S., Rodwell, J. S., Edwards, S. J., Davies, W. J., Elston, D. J. & Millard, P. 2004. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. *Applied Soil Ecology* **25**, 63-84.
- Grigatti, M., Ciavatta, C. & Gessa, C. 2004. Evolution of organic matter from sewage sludge and garden trimming during composting. *Bioresource Technology* **91**, 163-169.
- Grove, J. A., Kautola, H., Javadpour, S., Moo-Young, M. & Anderson, W. A. 2004. Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter. *Biochemical Engineering Journal* **18**, 111-114.
- Guillemain, J. P., Orozco, M. O., Gianinazzi-Pearson, V. & Gianinazzi, S. 1995. Influence of phosphate fertilization on fungal alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase activities in arbuscular mycorrhiza of soybean and pineapple. *Agriculture, Ecosystems & Environment* **53**, 63-69.
- Guillon-Larcheveque, M. 2004. Valorisation d'un compost de boues urbaines en garrigue pour le reboisement : Comportement des jeunes arbres d'une plantation et modifications de la dynamique de la végétation naturelle après amendement, Thèse de Doctorat, Université Paul Cezanne, 227p.
- Halet, D., Boon, N. & Verstraete, W. 2006. Community dynamics of methanotrophic bacteria during composting of organic matter. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **101**, 297-302.
- Hammel, K. E. 1997. Fungal Degradation of Lignin In *Driven by nature: plant litter quality and decomposition.*, Cadisch, G.; Giller, K.E. eds, pp. 432, United Kingdom.
- Harkin, J. M. & Obst, J. R. 1973. Syringaldazine, an effective reagent for detecting laccase and peroxidase in fungi. *Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS)* **29**, 381-387.
- Haruta, S., Nakayama, T., Nakamura, K., Hemmi, H., Ishii, M., Igarashi, Y. & Nishino, T. 2005. Microbial diversity in biodegradation and reutilization processes of garbage. *Journal of Bioscience and Bioengineering* **99**, 1-11.

- Hassen, A., Belguith, K., Jedidi, N., Cherif, A., Cherif, M. & Boudabous, A. 2001. Microbial characterization during composting of municipal solid waste. *Bioresource Technology* **80**, 217-225.
- Haug, R. T. 1993. *The Practical Handbook of Compost Engineering*, Lewis eds, pp. 752, USA.
- Haw, J. F., Maciel, G. E. & Schroeder, H. A. 1984. C-13 Nuclear Magnetic-Resonance Spectrometric Study of Wood and Wood Pulping with Cross Polarization and Magic-Angle Spinning. *Analytical Chemistry* **56**, 1323-1329.
- He, Y., Inamori, Y., Mizuochi, M., Kong, H., Iwami, N. & Sun, T. 2000. Measurements of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> from the aerated composting of food waste. *The Science of The Total Environment* **254**, 65-74.
- Hellmann, B., Zelles, L., Palojarvi, A. & Bai, Q. Y. 1997. Emission of climate-relevant trace gases and succession of microbial communities during open-window composting. *Applied and Environmental Microbiology* **63**, 1011-1018.
- Henriksson, G., Johansson, G. & Pettersson, G. 2000. A critical review of cellobiose dehydrogenases. *Journal of Biotechnology* **78**, 93-113.
- Hernandez, T., Masciandaro, G., Moreno, J. I. & Garcia, C. 2006. Changes in organic matter composition during composting of two digested sewage sludges. *Waste Management* **26**, 1370-1376.
- Herrmann, R. F. & Shann, J. F. 1997. Microbial Community Changes During the Composting of Municipal Solid Waste. *Microbial Ecology* **33**, 78-85.
- Hirai, M. F., A. Katayama, and H. Kubota. 1986. Effect of compost maturity on plant growth. *BioCycle* **27**, 58-61.
- Hobson, A. M., Frederickson, J. & Dise, N. B. 2005. CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O from mechanically turned windrow and vermicomposting systems following in-vessel pre-treatment. *Waste Management* **25**, 345-352.
- Hsu, J.-H. & Lo, S.-L. 1999. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformations during composting of pig manure. *Environmental Pollution* **104**, 189-196.
- Huang, G. F., Wong, J. W. C., Wu, Q. T. & Nagar, B. B. 2004. Effect of C/N on composting of pig manure with sawdust. *Waste Management* **24**, 805-813.
- Huang, G. F., Wu, Q. T., Wong, J. W. C. & Nagar, B. B. 2006. Transformation of organic matter during co-composting of pig manure with sawdust. *Bioresource Technology* **97**, 1834-1842.
- Husted, S. 1993. An open chamber technique for determination of methane emission from stored livestock manure. *Atmospheric Environment. Part A. General Topics* **27**, 1635-1642.

- Iannotti, D. A., Grebus, M. E., Toth, B. L., Madden, L. V. & Hoitink, H. A. J. 1994. Oxygen respirometry to assess stability and maturity of composted municipal solid waste. *Journal of Environmental Quality* **23**, 1177-1183.
- Inbar, Y., Chen, Y. & Hadar, Y. 1991. C-13 Cpmas Nmr and Ftir Spectroscopic Analysis of Organic-Matter Transformations During Composting of Solid-Wastes from Wineries. *Soil Science* **152**, 272-282.
- Jimenez, E. I. & Garcia, V. P. 1989. Evaluation of city refuse compost maturity: a review. *Biological Wastes* **27**, 115-142.
- Jimenez, E. I. & Garcia, V. P. 1991. Composting of Domestic Refuse and Sewage-Sludge .1. Evolution of Temperature, pH, C/N Ratio and Cation-Exchange Capacity. *Resources Conservation and Recycling* **6**, 45-60.
- Joffre, R., Gillon, D., Dardenne, P., Agneessens, R. & Biston, R. 1992. The Use of near-Infrared Reflectance Spectroscopy in Litter Decomposition Studies. *Annales des Sciences Forestieres* **49**, 481-488.
- Jouraiphy, A., Amir, S., El Gharous, M., Revel, J.-C. & Hafidi, M. 2005. Chemical and spectroscopic analysis of organic matter transformation during composting of sewage sludge and green plant waste. *International Biodeterioration & Biodegradation* **56**, 101-108.
- Kaiho, S.-i. & Mizuno, K. 1985. Sensitive assay systems for detection of hemoglobin with 2,7-diaminofluorene: Histochemistry and colorimetry for erythrodifferentiation. *Analytical Biochemistry* **149**, 117-120.
- Kalbitz, K. 2001. Properties of organic matter in soil solution in a German fen area as dependent on land use and depth. *Geoderma* **104**, 203-214.
- Kato, K., Miura, N., Tabuchi, H. & Nioh, I. 2005. Evaluation of maturity of poultry manure compost by phospholipid fatty acids analysis. *Biology and Fertility of Soils* **41**, 399-410.
- Kirk, J. L., Beaudette, L. A., Hart, M., Moutoglis, P., Khironomos, J. N., Lee, H. & Trevors, J. T. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods* **58**, 169-188.
- Kirk, T. K. & Farrell, R. L. 1987. Enzymatic Combustion - the Microbial-Degradation of Lignin. *Annual Review of Microbiology* **41**, 465-505.
- Kogel-Knabner, I. 1997. <sup>13</sup>C and <sup>15</sup>N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. *Geoderma* **80**, 243-270.
- Kogel-Knabner, I. 2002. The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biology and Biochemistry* **34**, 139-162.
- Kononova, M. M. 1961. *Soil Organic Matter, Its nature, its role in soil formation and in soil fertility*, Pergamon, pp. 252, New York.

- Kononova, M. M. 1966. *Soil organic matter*, Pergamon, pp. 544, New York.
- Kurusu, F., Satoh, H., Mino, T. & Matsuo, T. 2002. Microbial community analysis of thermophilic contact oxidation process by using ribosomal RNA approaches and the quinone profile method. *Water Research* **36**, 429-438.
- Laos, F., Mazzarino, M. J., Walter, I., Roselli, L., Satti, P. & Moyano, S. 2002. Composting of fish offal and biosolids in northwestern Patagonia. *Bioresource Technology* **81**, 179-186.
- Larre-Larrouy, M.-C. & Thuries, L. 2006. Does the methoxyl group content of the humic acid-like fraction of composts provide a criterion to evaluate their maturity? *Soil Biology and Biochemistry* **38**, 2976-2979.
- Lasaridi, K., Protopapa, I., Kotsou, M., Pilidis, G., Manios, T. & Kyriacou, A. 2006. Quality assessment of composts in the Greek market: The need for standards and quality assurance. *Journal of Environmental Management* **80**, 58-65.
- Lasaridi, K. E. & Stentiford, E. I. 1996. Respirometric techniques in the context of compost stability assessment: principles and practice. In *The Science of Composting, Part 1*, Chapman and Hall eds, pp. 274-285, Glasgow.
- Lasaridi, K. E. & Stentiford, E. I. 1998. A simple respirometric technique for assessing compost stability. *Water Research* **32**, 3717-3723.
- Leifeld, J., Siebert, S. & Kogel-Knabner, I. 2001. Stabilization of composted organic matter after application to a humus-free sandy mining soil. *Journal of Environmental Quality* **30**, 602-607.
- Linères, M. & Djakovitch, J. L. 1993. Caractérisation de la stabilité biologique des apports organiques par analyse biochimique. *Matières organiques et agriculture. Actes des 4èmes journées du GEMAS et du 5ème forum du COMIFER*, pp 159-168, Blois, France.
- Lupwayi, N. Z., Arshad, M. A., Rice, W. A. & Clayton, G. W. 2001. Bacterial diversity in water-stable aggregates of soils under conventional and zero tillage management. *Applied Soil Ecology* **16**, 251-261.
- Lynch, J. M. 1992. Substrate availability in the production of composts., In *Science and Engineering of Composting: Design, Environmental, Microbiological and Utilization Aspects*, The Ohio State University Press eds, pp. 24-35, Columbus.
- Maillard, L. C. 1913. Genèse des matières protéiques et des matières humiques - Action de la glycérine et des sucres sur les acides aminés, pp. 440, Faculté de Médecine de Paris, Paris.

- Malley, D. F., McClure, C., Martin, P. D., Buckley, K. & McCaughey, W. P. 2005. Compositional analysis of cattle manure during composting using a field-portable near-infrared spectrometer. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **36**, 455-475.
- Manios, V. I., Tsikalas, P. E. & Siminis, H. I. 1989. Phytotoxicity of olive tree leaf compost in relation to the organic acid concentration. *Biological Wastes* **27**, 307-317.
- Marche, T., Schnitzer, M., Dinel, H., Pare, T., Champagne, P., Schulten, H. R. & Facey, G. 2003. Chemical changes during composting of a paper mill sludge-hardwood sawdust mixture. *Geoderma* **116**, 345-356.
- Martinez, A. T., Almendros, G., Gonzalez-Vila, F. J. & Frund, R. 1999. Solid-state spectroscopic analysis of lignins from several Austral hardwoods. *Solid State Nuclear Magnetic Resonance* **15**, 41-48.
- Massiot, D., Fayon, F., Capron, M., King, I., Le Calve, S., Alonso, B., Durand, J. O., Bujoli, B., Gan, Z. H. & Hoatson, G. 2002. Modelling one- and two-dimensional solid-state NMR spectra. *Magnetic Resonance in Chemistry* **40**, 70-76.
- Mbuligwe, S. E., Kassenga, G. R., Kaseva, M. E. & Chaggu, E. J. 2002. Potential and constraints of composting domestic solid waste in developing countries: findings from a pilot study in Dar es Salaam, Tanzania. *Resources Conservation and Recycling* **36**, 45-59.
- McCarty, G. W., Reeves Iii, J. B., Reeves, V. B., Follett, R. F. & Kimble, J. M. 2002. Mid-infrared and near-infrared diffuse reflectance spectroscopy for soil carbon measurement. *Soil Science Society of America Journal* **66**, 640-646.
- McLellan, T. M., Aber, J. D., Martin, M. E., Melillo, J. M. & Nadelhoffer, K. J. 1991. Determination of Nitrogen, Lignin, and Cellulose Content of Decomposing Leaf Material by near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Canadian Journal of Forest Research* **21**, 1684-1688.
- Meekings, H. J., Stentiford, E. I. & Lee, D. L. 1996. The effect of sewage sludge compost on the viability of the eggs of a parasitic nematode. *Compost Science & Utilization* **4**, 46-54.
- Mena, E., Garrido, A., Hernandez, T. & Garcia, C. 2003. Bioremediation of sewage sludge by composting. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **34**, 957-971.
- Mester, T. & Field, J. A. 1997. Optimization of manganese peroxidase production by the white rot fungus *Bjerkandera sp.* strain BOS55. *FEMS Microbiology Letters* **155**, 161-168.
- Miller, G. L., Blum, R., Glennon, W. E. & Burton, A. L. 1960. Measurement of carboxymethylcellulase activity. *Analytical Biochemistry* **1**, 127-132.
- Misra, R. V. & Roy, R. N. 2005. On-farm composting methods, pp 26, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

- Molina, I., Bonaventure, G., Ohlrogge, J. & Pollard, M. 2006. The lipid polyester composition of *Arabidopsis thaliana* and *Brassica napus* seeds. *Phytochemistry* **67**, 2597-2610.
- Mondini, C., Fornasier, F. & Sinicco, T. 2004. Enzymatic activity as a parameter for the characterization of the composting process. *Soil Biology and Biochemistry* **36**, 1587-1594.
- Mondini, C. & Insam, H. 2003. Community level physiological profiling as a tool to evaluate compost maturity: a kinetic approach. *European Journal of Soil Biology* **39**, 141-148.
- Mouchacca, J. 1997. Thermophilic fungi: biodiversity and taxonomic status. *Cryptogamie: Mycologie* **18**, 19-69.
- Murphy, J. & Riley, J. P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytica Chimica Acta* **27**, 31-36.
- Murray, I. & P.C., W. 1990. Chemical principles of near-infrared technology In *Near-infrared technology in the agricultural and food industries*, P. Williams, K. Norris eds, pp. 17-34, American Association of Cereal Chemists, Minnesota.
- Mustin, M. 1987. *Le Compost, Gestion de la Matière Organique*, F. Dubusc eds, pp. 957, Paris.
- Mutuo, P. K., Shepherd, K. D., Albrecht, A. & Cadisch, G. 2006. Prediction of carbon mineralization rates from different soil physical fractions using diffuse reflectance spectroscopy. *Soil Biology and Biochemistry* **38**, 1658-1664.
- Namkoong, W., Hwang, E. Y., Cheong, J. G. & Choi, J. Y. 1999. A comparative evaluation of maturity parameters for food waste composting. *Compost Science & Utilization* **7**, 55-62.
- Nelson, D. W. & Sommers, L. E. 1996. Total Carbon, Organic Carbon and Organic Matter, In *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*, D.L., Sparks, J.M., Bartels & J.M. Bigham eds, Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5, pp. 1390, Madison.
- Nicolardot, B., R Chaussod, J. L. Morel, A. Guckert, D. Benistant, Ctroux G., and J. C. Germon. 1986. Appréciation simple de la maturité des composts urbains en relation avec leurs effets sur la production végétale. *Agronomie* **6**, 819-827.
- Odlare, M., Svensson, K. & Pell, M. 2005. Near infrared reflectance spectroscopy for assessment of spatial soil variation in an agricultural field. *Geoderma* **126**, 193-202.
- Pagliai, M., Vignozzi, N. & Pellegrini, S. 2004. Soil structure and the effect of management practices. *Soil and Tillage Research* **79**, 131-143.
- Palmborg, C. & Nordgren, A. 1993. Modelling microbial activity and biomass in forest soil with substrate quality measured using near infrared reflectance spectroscopy. *Soil Biology and Biochemistry* **25**, 1713-1718.

- Pascual, J. A., Hernandez, T., Garcia, C. & Ayuso, M. 1998. Enzymatic activities in an arid soil amended with urban organic wastes: Laboratory experiment. *Bioresource Technology* **64**, 131-138.
- Pelaez, C., Mejia, A. & Planas, A. 2004. Development of a solid phase kinetic assay for determination of enzyme activities during composting. *Process Biochemistry* **39**, 971-975.
- Pereiraneto, J. T., Stentiford, E. I. & Smith, D. V. 1986. Survival of Fecal Indicator Microorganisms in Refuse-Sludge Composting Using the Aerated Static Pile System. *Waste Management & Research* **4**, 397-406.
- Piccolo, A. 2002. The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science, In *Advances in Agronomy* **75**, 57-134.
- Preston-Mafham, J., Boddy, L. & Randerson, P. F. 2002. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles - a critique. *FEMS Microbiology Ecology* **42**, 1-14.
- Queda, A. C. C., Vallini, G., Agnolucci, M., Coelho, C. A., Campos, L. & de Sousa, R. B. 2002. Microbiological and chemical characterisation of composts at different levels of maturity, with evaluation of phytotoxicity and enzymatic activities, In *Microbiology of Composting*, Insam, H., Riddech, N., and Klammer, S. eds, pp. 345-355, Heidelberg.
- Quenea, K., Derenne, S., Largeau, C., Rumpel, C. & Mariotti, A. 2004. Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil. *Organic Geochemistry* **35**, 1355-1370.
- Quoc Lam, H., Le Bigot, Y., Delmas, M. & Avignon, G. 2001. A new procedure for the destructuring of vegetable matter at atmospheric pressure by a catalyst/solvent system of formic acid/acetic acid. Applied to the pulping of triticale straw. *Industrial Crops and Products* **14**, 139-144.
- Rao, M. A., Gianfreda, L., Palmiero, F. & Violante, A. 1996. Interactions of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes. *Soil Science* **161**, 751-760.
- Reeves, J. B., McCarty, G. W. & Meisinger, J. J. 1999. Near infrared reflectance spectroscopy for the analysis of agricultural soils. *Journal of Near Infrared Spectroscopy* **7**, 179-193.
- Reveille, V., Mansuy, L., Jarde, E. & Garnier-Sillam, E. 2003. Characterisation of sewage sludge-derived organic matter: lipids and humic acids. *Organic Geochemistry* **34**, 615-627.
- Rio, J. C., Gutierrez, A., Martinez, M. J. & Martinez, A. T. 2001. Py-GC/MS study of *Eucalyptus globulus* wood treated with different fungi. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **58-59**, 441-452.

- Rio, J. C., Speranza, M., Gutierrez, A., Martinez, M. J. & Martinez, A. T. 2002. Lignin attack during eucalypt wood decay by selected basidiomycetes: a Py-GC/MS study. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **64**, 421-431.
- Rivero, C., Chirenje, T., Ma, L. Q. & Martinez, G. 2004. Influence of compost on soil organic matter quality under tropical conditions. *Geoderma* **123**, 355-361.
- Robert, M. 1996. *Le sol: interface dans l'environnement, ressource pour le développement*, Masson, pp. 241, Paris.
- Roberts, J. D. & Caserio, M. C. 1968. *Chimie organique moderne*, J. M. Conia eds, pp. 879, Paris.
- Robin, D. 1997. Intérêt de la caractérisation biochimique pour l'évaluation de la proportion de matière organique stable après décomposition dans le sol et la classification des produits organominéraux. *Agronomie* **17**, 157-171.
- Ros, M., Garcia, C. & Hernandez, T. 2006. A full-scale study of treatment of pig slurry by composting: Kinetic changes in chemical and microbial properties. *Waste Management* **26**, 1108-1118.
- Ryckeboer, J., Mergaert, J., Coosemans, J., Deprins, K. & Swings, J. 2003. Microbiological aspects of biowaste during composting in a monitored compost bin. *Journal of Applied Microbiology* **94**, 127-137.
- Saebo, A. & Ferrini, F. 2006. The use of compost in urban green areas - A review for practical application. *Urban Forestry & Urban Greening* **4**, 159-169.
- Said-Pullicino, D., Kaiser, K., Guggenberger, G. & Gigliotti, G. 2007. Changes in the chemical composition of water-extractable organic matter during composting: Distribution between stable and labile organic matter pools. *Chemosphere* **66**, 2166-76.
- Sanchez-Monedero, M. A., Cegarra, J., Garcia, D. & Roig, A. 2002. Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. *Biodegradation* **13**, 361-371.
- Sanchez-Monedero, M. A., Roig, A., Cegarra, J. & Bernal, M. P. 1999. Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification indices of different organic wastes during composting. *Bioresource Technology* **70**, 193-201.
- Sanchez-Monedero, M. A., Roig, A., Paredes, C. & Bernal, M. P. 2001. Nitrogen transformation during organic waste composting by the Rutgers system and its effects on pH, EC and maturity of the composting mixtures. *Bioresource Technology* **78**, 301-308.
- Schulten, H. R. & Leinweber, P. 2000. New insights into organic-mineral particles: composition, properties and models of molecular structure. *Biology and Fertility of Soils* **30**, 399-422.

- Semple, K. T., Reid, B. J. & Fermor, T. R. 2001. Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution* **112**, 269-283.
- Senesi, N., Miano, T. M., Provenzano, M. R. & Brunetti, G. 1989. Spectroscopic and compositional comparative characterization of I.H.S.S. reference and standard fulvic and humic acids of various origin. *The Science of The Total Environment* **81-82**, 143-156.
- Serra-Wittling, C., Houot, S. & Alabouvette, C. 1996. Increased soil suppressiveness to *Fusarium* wilt of flax after addition of municipal solid waste compost. *Soil Biology and Biochemistry* **28**, 1207-1214.
- Sharma, V. K., Canditelli, M., Fortuna, F. & Cornacchia, G. 1997. Processing of urban and agro-industrial residues by aerobic composting: Review. *Energy Conversion and Management* **38**, 453-478.
- Shenk, J. S., J.J., W. & M.O., W. 2001. *Application of NIR spectroscopy to agricultural products, Handbook of near-infrared analysis. 2nd ed*, D.A. Burns and E.W. Ciurczak eds, New York.
- Shenk, J. S. & Westerhaus, M. O. 1991. Population Structuring of near-Infrared Spectra and Modified Partial Least-Squares Regression. *Crop Science* **31**, 1548-1555.
- Shepherd, K. D., Palm, C. A., Gachengo, C. N. & Vanlauwe, B. 2003. Rapid characterization of organic resource quality for soil and livestock management in tropical agroecosystems using near-infrared spectroscopy. *Agronomy Journal* **95**, 1314-1322.
- Siciliano, S. D., Roy, R. & Greer, C. W. 2000. Reduction in denitrification activity in field soils exposed to long term contamination by 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). *FEMS Microbiology Ecology* **32**, 61-68.
- Sidhu, J., Gibbs, R. A., Ho, G. E. & Unkovich, I. 2001. The role of indigenous microorganisms in suppression of Salmonella regrowth in composted biosolids. *Water Research* **35**, 913-920.
- Sinsabaugh, R. L., Antibus, R. K. & Linkins, A. E. 1991. An Enzymatic Approach to the Analysis of Microbial Activity During Plant Litter Decomposition. *Agriculture Ecosystems & Environment* **34**, 43-54.
- Speir, T. W. & Ross, D. F. 1978. Soil phosphatases and sulfatases, In *Soil Enzymes*, R.G. Burns eds, pp. 198-235, New York.
- Staudinger, H. 1935. *Die hochmolekularen organischen Verbindungen, Kautschuk und Cellulose*, Springer eds, pp. 257 Berlin.
- Steger, K., Jarvis, A., Smars, S. & Sundh, I. 2003. Comparison of signature lipid methods to determine microbial community structure in compost. *Journal of Microbiological Methods* **55**, 371-382.

- Stevenson, F. J. 1994. *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions (second ed.)*, John Wiley & Sons eds, pp. 521, New York
- Suehara, K., Nakano, Y. & Yano, T. 2001. Simultaneous measurement of carbon and nitrogen content of compost using near infrared spectroscopy. *Journal of near Infrared Spectroscopy* **9**, 35-41.
- Sundberg, C., Smars, S. & Jonsson, H. 2004. Low pH as an inhibiting factor in the transition from mesophilic to thermophilic phase in composting. *Bioresource Technology* **95**, 145-150.
- Swift, R. S. 1996. Organic matter characterization In *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods*, D.L., Sparks, J.M., Bartels & J.M. Bigham eds, pp. 1011-1069, Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5, Madison.
- Tang, J.-C., Kanamori, T., Inoue, Y., Yasuta, T., Yoshida, S. & Katayama, A. 2004. Changes in the microbial community structure during thermophilic composting of manure as detected by the quinone profile method. *Process Biochemistry* **39**, 1999-2006.
- Tang, J.-C., Maie, N., Tada, Y. & Katayama, A. 2006. Characterization of the maturing process of cattle manure compost. *Process Biochemistry* **41**, 380-389.
- Tejada, M., Garcia, C., Gonzalez, J. L. & Hernandez, M. T. 2006. Use of organic amendment as a strategy for saline soil remediation: Influence on the physical, chemical and biological properties of soil. *Soil Biology & Biochemistry* **38**, 1413-1421.
- Temp, U. & Eggert, C. 1999. Novel interaction between laccase and cellobiose dehydrogenase during pigment synthesis in the white rot fungus *Pycnoporus cinnabarinus*. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 389-395.
- Tester, C. F., Sikora, L. J., Taylor, J. M. & Parr, J. F. 1979. Decomposition of Sewage Sludge Compost in Soil .3. Carbon, Nitrogen, and Phosphorus Transformations in Different Sized Fractions. *Journal of Environmental Quality* **8**, 79-82.
- Thomsen, M., Lassen, P., Dobel, S., Hansen, P. E., Carlsen, L. & Mogensen, B. B. 2002. Characterisation of humic materials of different origin: A multivariate approach for quantifying the latent properties of dissolved organic matter. *Chemosphere* **49**, 1327-1337.
- Tiquia, S. M. 2005. Microbiological parameters as indicators of compost maturity. *Journal of Applied Microbiology* **99**, 816-828.
- Tiquia, S. M. & Tam, N. F. Y. 1998. Elimination of phytotoxicity during co-composting of spent pig-manure sawdust litter and pig sludge. *Bioresource Technology* **65**, 43-49.
- Tiquia, S. M., Tam, N. F. Y. & Hodgkiss, I. J. 1997. Effects of turning frequency on composting of spent pig-manure sawdust litter. *Bioresource Technology* **62**, 37-42.
- Tiquia, S. M., Wan, J. H. C. & Tam, N. F. Y. 2001. Extracellular enzyme profiles during co-composting of poultry manure and yard trimmings. *Process Biochemistry* **36**, 813-820.

- Tiquia, S. M., Wan, J. H. C. & Tam, N. F. Y. 2002. Microbial population dynamics and enzyme activities during composting. *Compost Science & Utilization* **10**, 150-161.
- Tomati, U., Madejon, E. & Galli, E. 2000. Evolution of humic acid molecular weight as an index of compost stability. *Compost Science & Utilization* **8**, 108-115.
- Torsvik, V., Daae, F. L., Sandaa, R.-A., Oslash & vreas, L. 1998. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. *Journal of Biotechnology* **64**, 53-62.
- Tremier, A., de Guardia, A., Massiani, C., Paul, E. & Martel, J. L. 2005. A respirometric method for characterising the organic composition and biodegradation kinetics and the temperature influence on the biodegradation kinetics, for a mixture of sludge and bulking agent to be co-composted. *Bioresource Technology* **96**, 169-180.
- Tuomela, M., Vikman, M., Hatakka, A. & Itavaara, M. 2000. Biodegradation of lignin in a compost environment: a review. *Bioresource Technology* **72**, 169-183.
- Van Dijk, H. 1971. Colloidal chemical properties of humic matter, In *Soil Biochemistry*, Laren-Skyins eds, pp. 16-35, New York.
- Vane, C. H., Drage, T. C. & Snape, C. E. 2006. Bark decay by the white-rot fungus *Lentinula edodes*: Polysaccharide loss, lignin resistance and the unmasking of suberin. *International Biodeterioration & Biodegradation* **57**, 14-23.
- Veeken, A., Nierop, K., Wilde, V. d. & Hamelers, B. 2000. Characterisation of NaOH-extracted humic acids during composting of a biowaste. *Bioresource Technology* **72**, 33-41.
- Velasquez, E., Lavelle, P., Barrios, E., Joffre, R. & Reversat, F. 2005. Evaluating soil quality in tropical agroecosystems of Colombia using NIRS. *Soil Biology and Biochemistry* **37**, 889-898.
- Vinceslas-Akpa, M. & Loquet, M. 1997. Organic matter transformations in lignocellulosic waste products composted or vermicomposted (*eisenia fetida andrei*): Chemical analysis and <sup>13</sup>C CPMAS NMR spectroscopy. *Soil Biology and Biochemistry* **29**, 751-758.
- Viscarra Rossel, R. A., Walvoort, D. J. J., McBratney, A. B., Janik, L. J. & Skjemstad, J. O. 2006. Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. *Geoderma* **131**, 59-75.
- Waksman, S. A. 1936. *Humus*, Baillièere eds, Baltimore.
- Wang, P., Changa, C. M., Watson, M. E., Dick, W. A., Chen, Y. & Hoitink, H. A. J. 2004. Maturity indices for composted dairy and pig manures. *Soil Biology and Biochemistry* **36**, 767-776.

- Wershaw, R. L. 1986. A new model for humic materials and their interactions with hydrophobic organic chemicals in soil-water or sediment-water systems. *Journal of Contaminant Hydrology* **1**, 29-45.
- Wershaw, R. L. 1993. Model for Humus in Soils and Sediments. *Environmental Science & Technology* **27**, 814-816.
- Wikberg, H. & Maunu, S. L. 2004. Characterisation of thermally modified hard- and softwoods by C-13 CPMAS NMR. *Carbohydrate Polymers* **58**, 461-466.
- Wong, J. W. C., Ma, K. K., Fang, K. M. & Cheung, C. 1999. Utilization of a manure compost for organic farming in Hong Kong. *Bioresource Technology* **67**, 43-46.
- Wong, M. H. 1985. Phytotoxicity of refuse compost during the process of maturation. *Environmental Pollution, Series A: Ecological and Biological* **37**, 159-174.
- Wuertz, S., Okabe, S. & Hausner, M. 2004. Microbial communities and their interactions in biofilm systems: an overview. *Water Science and Technology* **49**, 327-336.
- Yohalem, D. S., Volland, R., Nordheim, E. V., Harris, R. F. & Andrews, J. H. 1996. Sample size requirements to evaluate spore germination inhibition by compost extracts. *Soil Biology and Biochemistry* **28**, 519-525.
- Zak, J. C., Willig, M. R., Moorhead, D. L. & Wildman, H. G. 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry* **26**, 1101-1108.
- Zbytniewski, R. & Buszewski, B. 2005. Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 1: chemical and spectroscopic properties. *Bioresource Technology* **96**, 471-478.
- Zbytniewski, R. & Buszewski, B. 2005. Characterization of natural organic matter (NOM) derived from sewage sludge compost. Part 2: multivariate techniques in the study of compost maturation. *Bioresource Technology* **96**, 479-484.
- Zhang, Y. & He, Y. 2006. Co-composting solid swine manure with pine sawdust as organic substrate. *Bioresource Technology* **97**, 2024-2031.
- Zhou, Q., Gibson, C. E. & Zhu, Y. 2001. Evaluation of phosphorus bioavailability in sediments of three contrasting lakes in China and the UK. *Chemosphere* **42**, 221-225.
- Wu, L. and L. Q. Ma. 2001. Effects of sample storage on biosolids compost stability and maturity evaluation. *Journal of Environmental Quality* **30**, 222-228