

Etude comparative de salubrité du compost à froid par rapport au compost à chaud

Licence Professionnelle GEMD

BEAULIEU Erwan

HOMAWOO Kaïna

LAMOUR Thomas



Rapport de projet tuteuré, supervisé par **Mme Taste Corinne**

Remerciements

Dans le cadre de notre projet tuteuré, nous tenons à adresser nos sincères remerciements à toutes celles et ceux qui, de près ou de loin, nous ont aidés dans notre tâche.

En premier lieu, nous remercions notre tutrice, Mme Taste Corinne, ainsi que M. Violleau David, pour leur aide précieuse et la patience dont ils ont fait preuve à notre égard.

Nous remercions aussi M. Gayral Phillipe, pour son appui technique sur la partie calcul, ainsi que M. Journet Yann, pour la préparation du matériel utile à nos différentes expériences en micro-biologie. Sans oublier M. Moreau Sébastien pour nous avoir permis d'utiliser son compost.

Enfin, nous tenons à remercier M. Mahe Laurent, pour nous avoir apporté les connaissances techniques nécessaires à la bonne réalisation de ce rapport.

Sommaire

Remerciements.....	1
Sommaire.....	2
Table des figures.....	4
Table des tableaux.....	5
Introduction.....	6
I. Le compostage	7
1. Définition	7
2. Les acteurs de la décomposition	8
3. Les différents compostages :.....	10
a. Le compostage à chaud :.....	10
b. Le compostage à froid :.....	12
c. La méthode Berkeley	12
d. Le lombricomposteur	13
4. Les caractéristiques d'un compost mature	14
II. Les bactéries dans le compost	15
1. Les manipulations.....	15
a. Les Indicateurs de traitement.....	15
b. Le dénombrement d' <i>Escherichia coli</i> :.....	16
c. Le dénombrement des Entérocoques :.....	20
d. La vérification de la présence de Salmonelle :.....	21
2. Résultats et interprétations.....	22
a. Les indicateurs de traitement	22
b. Salmonelles	26
III. Pour aller plus loin : test du Cresson.....	27
1) Manipulation.....	27

2) Résultats et interprétations	28
Conclusion	33
Bibliographie.....	34

Table des figures

Figure 1 : illustration de compostage avec 2 bacs (source : [7]).....	7
Figure 2 : compost en tas (source : [5]).....	8
Figure 3 : Évolution de la température lors du processus de compostage des déchets (d'après Mustin, 1987) (source : [3]).....	11
Figure 4 : lombricomposteur « City Worms » (source : site internet de Vers la Terre).....	13
Figure 5 : Tubes à essai pour une dilution en cascade (source : Kaïna Homawoo).....	16
Figure 6 : Schéma de la méthode NPP utilisée pour le dénombrement <i>des E.coli</i> (source : Kaïna Homawoo).....	18
Figure 7 : Plaque NPP d' <i>E. coli</i> sous lampe UV (source : Thomas Lamour).....	19
Figure 8 : Pur d'entérocoques (1 g/20 mL) (source : Kaïna Homawoo).....	20
Figure 9 : Disposition en "bloc" (source : Erwan Beaulieu).....	28
Figure 10 : Histogramme du taux de graines germées par rapport au substrat.....	31
Figure 11 : Histogramme du taux de plantules anormales par rapport aux substrats.....	31
Figure 12 : Histogramme de la biomasse aérienne moyenne d'une plantule en fonction des substrats.....	32

Table des tableaux

Tableau 1 : Résultats du dénombrement pour les différents échantillons.....	24
Tableau 2 : Comparaison des résultats aux valeurs seuils	25
Tableau 3 : Résultats bruts à différents jours	28
Tableau 4 : Pourcentage de plantules obtenues à différents jours	29

Introduction

En août 2015, sort la loi n°2015-992 du 17 août 2015 relative à la transition énergétique pour la croissance verte. Elle stipule que « avant 2025, (...) chaque citoyen ait à sa disposition une solution lui permettant de ne pas jeter ses biodéchets dans les ordures ménagères résiduelles, afin que ceux-ci ne soient plus éliminés, mais valorisés. »

Le compostage est aujourd'hui pratiqué par « plus de 10 millions de foyers » [1] et semble être une solution de valorisation abordable tant économiquement que techniquement. Il peut se pratiquer à l'échelle individuelle, collective ou à l'échelle industrielle. Il peut être mis en place dans son jardin, dans son appartement et/ou dans une plateforme de compostage. Le compostage propose donc différentes approches, lieux et techniques de réalisation.

De nos jours les deux techniques de compostage les plus communes sont le compostage à froid et le compostage à chaud, dont la principale différence est la montée en température du compost. Dans un souci de salubrité pour les utilisateurs, il est intéressant d'aborder la question de la charge bactérienne dans ces composts.

Nous pouvons donc nous demander :

Le compost à froid est-il aussi sain que le compost à chaud ?

Pour répondre à cette question, nous décrirons tout d'abord le compostage de manière globale ainsi que les différentes techniques, puis nous expliquerons les expériences microbiologiques que nous avons menées et enfin, nous parlerons de l'expérience que nous avons réalisée pour tester la qualité de nos composts.

I. Le compostage

1. Définition

Le dictionnaire Larousse définit le compostage comme la « mise en fermentation de certains déchets agricoles ou urbains, de façon à récupérer des éléments riches en minéraux et matière organique, qui sont ensuite incorporés aux terres agricoles afin de les enrichir ». Cependant cette définition présente des imperfections. En effet, le compostage n'est en aucun cas une fermentation. Une fermentation se déroule en absence totale ou partielle d'oxygène (en anaérobie). Le compostage fait appel à un processus naturel de décomposition des déchets organiques en présence d'oxygène (en aérobie), d'eau, de macro-organisme et de micro-organisme.

Il peut être dans un ou plusieurs bacs (figure 1) ou prendre l'apparence d'un tas ou d'un andain (figure 2).

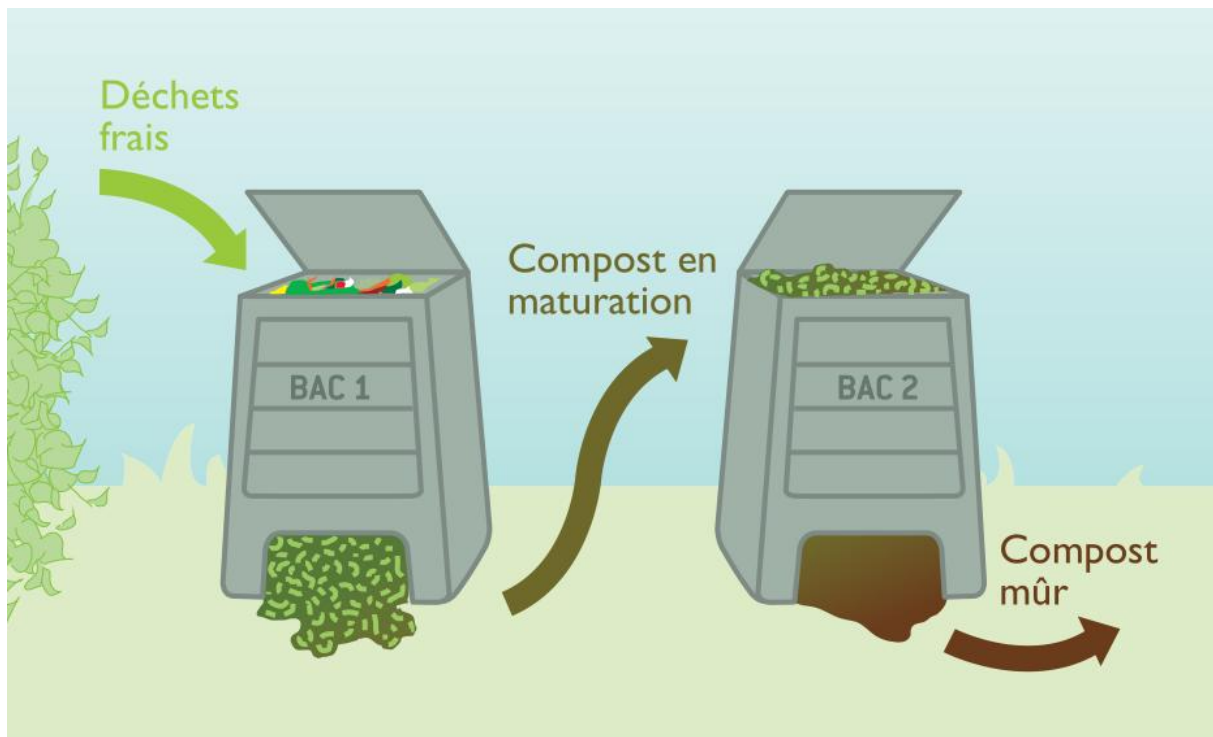


Figure 1 : illustration de compostage avec 2 bacs (source : [7])



Figure 2 : compost en tas (source : [5])

Il faut 3 kg de déchets organiques pour produire 1 kg de compost [2]. Le but est d'obtenir après le compostage un amendement agricole proche de l'humus présent dans les forêts, avec un pH entre 6 et 8. Ce compost doit avoir un rapport Carbone/Azote (C/N) compris de manière optimale entre 30 et 35¹. Le compost est riche en composé humique [3], il contient du phosphore, de la potasse, de la chaux, de la magnésie et de l'azote [4]. Il favorise la fertilité et l'humidité de la terre. Le compostage permet, en plus d'une valorisation matière, de réduire le volume des déchets présents au début du processus. Ce-dernier fait intervenir une faune et une flore variée.

2. Les acteurs de la décomposition

Parmi les micro-organismes du processus, les bactéries se trouvent au premier plan. Les différentes bactéries présentes dans les déchets forment un mélange complexe. Elles sont thermophiles ou mésophiles, aérobies ou anaérobies et spécifiques des substrats carbonés, azotés, etc [3]. Parmi les bactéries les plus importantes, il est primordial de citer les actinomycètes. Au cours de leur croissance, ces-dernières vont s'organiser en colonies semblables à un mycélium constitué d'hyphes (ensemble de filaments plus ou moins ramifiés). Les actinomycètes produisent beaucoup d'enzymes. Une enzyme est semblable à une paire de ciseaux moléculaires. Elles vont « découper » les composés complexes en éléments simples et assimilables. Leurs appellations comportent le suffixe -ases comme les amylases et les xylanases qui vont décomposer la matière organique d'origine végétale. Les chitinases vont dégrader la matière organique d'origine animale.

¹ Un compost avec un rapport C/N de 20 est cependant de bonne qualité, d'après Blandine Benoit, qui est l'agent de prévention sécurité du SMITOM d'Amboise, où se trouve une plateforme de compostage industrielle.

En plus des bactéries, les champignons sont des éléments non négligeables de la décomposition. Comme ils ne supportent pas les hautes températures, ils sont en général en périphérie du compost. L'association des actions de ses micro-organismes prépare donc les molécules de base, les phénols, les acides aminés qui en se polymérisant vont former des acides humiques essentiels à la fertilité des sols [3].

En complément de l'action des micro-organismes, les macro-organismes vont eux aussi avoir un rôle prépondérant dans la transformation des déchets en compost. Cette faune est composée de lombrics, d'acariens, de cloportes, de collemboles, de myriapodes, de coléoptères et d'autres insectes présents naturellement dans la litière du sol de la forêt, entre les feuilles, sous les branches rongées et en décompositions. Ces insectes et petits animaux vont se nourrir des déchets. Les enzymes de leurs systèmes digestifs vont avoir le même effet que les enzymes bactériennes. Une fois excrétées, la matière est à nouveau digérée par les micro-organismes [3]. L'action combinée des micro-organismes et des macro-organismes permet une bonne décomposition et fait vivre une biodiversité riche. Cette décomposition peut être mise en place sous différentes configurations.

3. Les différents compostages :

a. Le compostage à chaud :

Ce nom est dû à l'augmentation de la température dans le compost. Le processus biologique dans le compostage à chaud qui permet à la matière de se décomposer comprend 4 phases :

- Au cours de la première phase, les bactéries mésophiles vont consommer les molécules facilement assimilables (protides, glucides, lipides) comme le montre la figure 3 [3]. Le métabolisme bactérien va produire de la chaleur et consommer beaucoup d'oxygène. Une bonne humidité (50%) est également importante pour que les bactéries se développent dans de bonnes conditions.
- Une fois les 35°C atteints, la phase thermophile débute (figure 3). La flore bactérienne est remplacée par des bactéries thermophiles et thermotolérantes [3]. La température augmente jusqu'à 60°C, voir même 90°C dans certains cas [3]. La respiration aérobie des bactéries thermophiles dégage du gaz carbonique [3]. Cette phase est aussi appelée phase « d'hygiénisation ». Le terme d'hygiénisation n'est pas à confondre avec une stérilisation. Dans le cas d'une stérilisation, toutes les bactéries seraient détruites. Ici, la destruction des organismes pathogènes (bactéries, parasites) ainsi que les graines présentes à l'origine est le résultat des hautes températures du tas de compost couplées à une compétition microbienne [3].
- Une fois les molécules simples consommées, la température va commencer à baisser jusqu'à atteindre la température ambiante (figure 3). C'est au cours de cette phase de refroidissement que les polymères plus complexes comme la lignine et la cellulose vont commencer à être dégradé. Les champignons vont pouvoir coloniser à nouveau le compost [3]. Les actinomycètes vont également dégrader la matière pendant cette phase de manière plus importante que les autres bactéries [3]. L'azote va pouvoir être intégré aux molécules plus

complexes, et les champignons vont pouvoir fabriquer des substances humiques [5].

- Lorsque la température passe sous la barre des 30°C, les insectes et les petits animaux vont coloniser le compost et compléter l'action des micro-organismes (figure 3). La macro-faune va permettre une homogénéisation du produit final [3]. La matière est stabilisée/mature à la fin du processus et elle est humifiée [5].

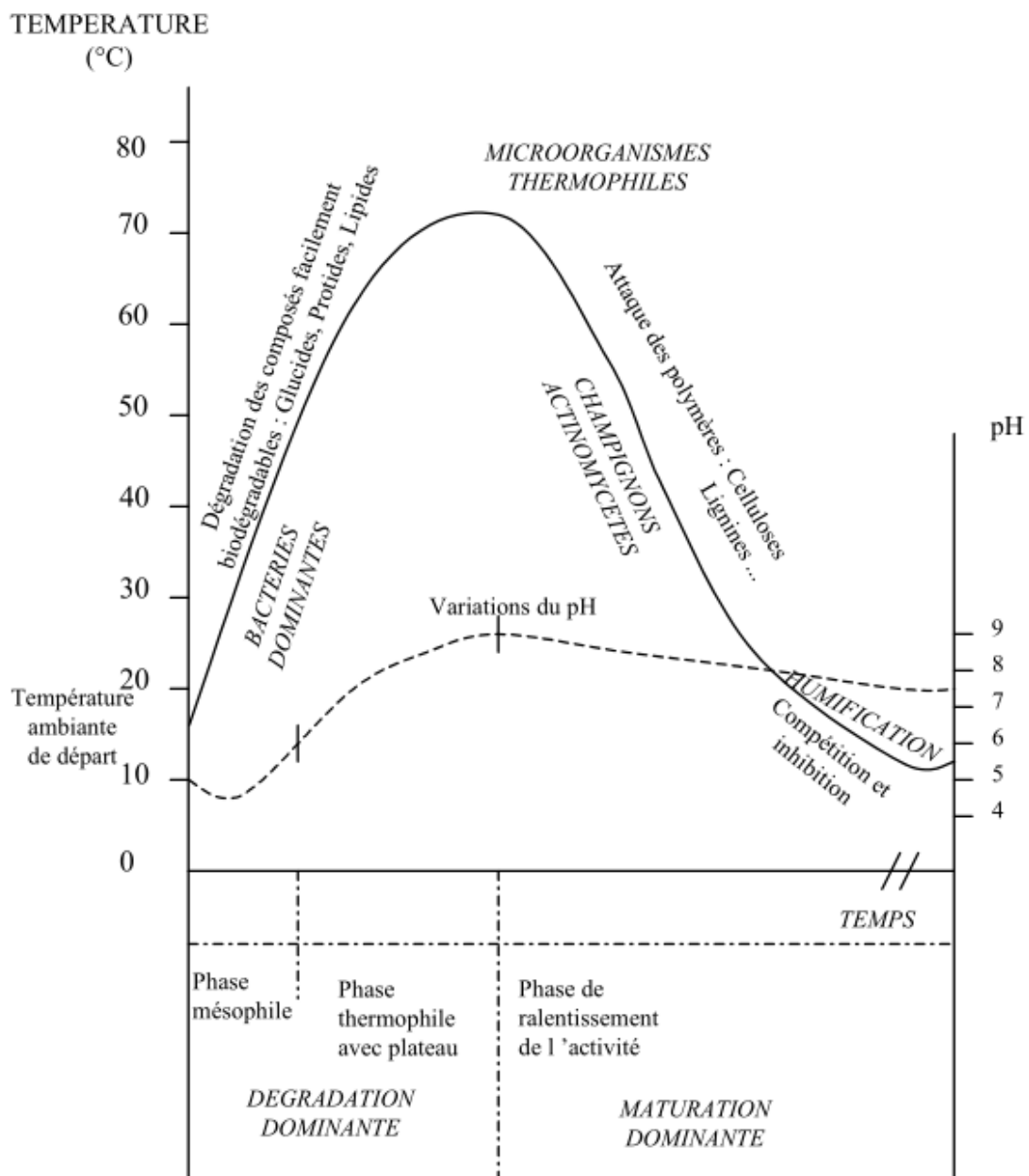


Figure 3 : Évolution de la température lors du processus de compostage des déchets (d'après Mustin, 1987) (source : [3])

b. Le compostage à froid :

La durée du compostage est assez variable. Elle dépend de la température, des éléments ajoutés au compost et de la méthode utilisée. Mais le compostage à froid le plus fréquemment rencontré dans les jardins des particuliers prend jusqu'à 9 mois [6] pour arriver à maturité, il peut cependant être utilisé après 4 à 5 mois [7]. En effet, comme ce qui se produit sur les sols forestiers, le compostage individuel classique a lieu sans une augmentation de température significative. Il faudra être vigilant de ne pas incorporer au compost des végétaux malades et des mauvaises herbes en graine car l'hygiénisation sera incomplète. La compétition bactérienne va cependant limiter la prolifération des bactéries pathogènes [7]. Il peut se faire en tas ou en bacs. Il doit être suffisamment humide et oxygéné (par retournement ou bien en incorporant des éléments grossiers créant ainsi des poches d'air) [7]. Les tas ne sont souvent pas assez importants pour que la chaleur puisse s'y accumuler, contrairement au bâchage de la « méthode Berkeley » et aux gros andains industriels.

Ce type de compost tend à se développer. En effet, l'association Zéro Déchet Touraine a pour projet la mise en place d'un composteur à froid collectif utilisant un système de casier en bois. Il s'agit du « Compostou ».

c. La méthode Berkeley

Il existe une méthode dite de « Berkeley » qui permet d'avoir un compost prêt à l'emploi en une vingtaine de jours. Le principe est de faire des couches de matière successives à la manière d'un plat de lasagne. Il faut : une couche de déjection d'origine animale (fumier, purin, crottin), une couche de matière azotée et une couche de matière carbonée. Cette méthode reproduit à petite échelle ce qui se fait dans les plateformes de compostage. Le tas va rapidement monter en température et permet un usage rapide. Il doit être humide à 50% et bâché. Il doit être retourné tous les 2 jours et doit faire au moins 1m² [8].

Il est possible aussi de pratiquer le compostage en appartement grâce au lombricomposteur.

d. Le lombricomposteur

C'est une boîte composée de 2 ou 3 plateaux troués et d'un bac à jus qui récupère les lixiviats comme le montre la figure 4.



Figure 4 : lombricomposteur « City Worms » (source : site internet de Vers la Terre)

Il permet de pouvoir composter les déchets de cuisine facilement. Les vers peuvent circuler entre les différents plateaux pour une décomposition complète. Le plateau inférieur est en principe le plus mature. Lorsqu'il sera vidé, il pourra être à nouveau rempli et mit au sommet. Les lixiviats font un excellent fertilisant. Il se trouve dans le bac à jus et peuvent être récupérés grâce à un robinet. Avant de pouvoir utiliser les lixiviats comme fertilisant, ils doivent être dilués. Pour bien fonctionner, l'humidité doit être de 80%. Il faut aussi équilibrer les matières azotées (épluchures, feuilles verte etc) et les matières carbonées (carton, papier sans encres chimiques). Il est possible de mettre les marques de café et le thé usagers. Il est aussi possible de se procurer des vers et des lixiviats sur des sites internet de donation comme « plus2vers.fr ».

4. Les caractéristiques d'un compost mature

Dans tous les cas, un compost mature se reconnaît grâce à certaines caractéristiques [3] [7] :

- Il ne s'échauffe plus lors du retournement
- Il n'y a pas d'anaérobiose pendant le stockage
- Il n'immobilise pas d'azote une fois incorporé dans un sol
- Il est non phytotoxique
- Il est de couleur sombre (noir, marron)
- Il est de structure homogène
- Il sent la terre forestière humide

Le compost fait de manière industrielle peut répondre à deux logiques : la logique produit et la logique déchet. Dans sa logique produit, les installations vont calibrer le compost pour qu'il réponde aux exigences de la norme NFU 44-051 rendue obligatoire par arrêté du 21 août 2007. Si le compost contient des boues de stations d'épuration la norme NFU 44-095 est d'application obligatoire par l'arrêté du 18 mars 2004. Si le compost ne respecte pas ces normes, il ne pourra pas être vendu. A contrario, le compost qui est dans une logique déchet, ne pourra pas être vendu et sera valorisé dans les champs via un plan d'épandage. Il devra cependant suivre les arrêtés ministériels du 22 avril 2008 ou du 7 janvier 2002.

Nos axes de comparaison afin de déterminer si notre compost à froid est sain et efficace seront basés sur les critères microbiologiques ainsi que sur les indicateurs de traitements.

Comme nous avons pu l'évoquer, les bactéries sont les premiers acteurs de la dégradation des déchets organiques. Nous allons donc aborder les manipulations effectuées en microbiologie pour comparer nos composts à chaud et à froid au niveau bactériologique, avec pour témoin le sol.

II. Les bactéries dans le compost

1. Les manipulations

En accord avec le but de notre étude, le caractère sain de nos échantillons de compost a été testé pour des bactéries pathogènes en particulier. En effet, la norme NFU 44-051 impose la recherche de la *Salmonella* [9]. La Salmonelle est un micro-organisme pathogène, soit, pouvant provoquer des maladies. La norme propose également la recherche « d'indicateur de traitement » en annexe B [9].

Ces indicateurs sont basés sur des concentrations seuils de deux espèces de bactéries :

- Les *Escherichia coli*, ne doivent pas dépasser une concentration de 10^2 / g MB² compost ou de sol.
- Les Entérocoques qui sont également des micro-organismes pathogènes, ne doivent pas dépasser une concentration de 10^4 / g MB de compost ou de sol.

En ce qui concerne les *Salmonella*, la norme stipule une absence totale de cette espèce dans 1 g de compost [9]. Cette bactérie responsable d'intoxications alimentaires peut être mortelle dans certains cas et chez certains patients.

Avant de voir le déroulement des tests effectués, nous signaleront qu'au niveau des micro-organismes, et par rapport à la norme, la vérification d'absence d'œufs d'helminthes viables n'a pas été effectuée pour des raisons techniques et pratiques [9].

a. Les Indicateurs de traitement

Afin de se rendre compte au mieux du processus d'hygiénisation de nos échantillons, nous avons utilisé les indicateurs de traitement de la norme [9]. Ces-derniers nous permettent de comparer le processus du compost à chaud à celui du compost à froid avec pour témoin le sol. Les manipulations décrites ci-dessous ont donc été faites pour chaque échantillon. Ces tests ont été réalisés sur un compost à chaud mature (9 ans environ) et un compost à froid mature également (1 ans).

² Matière brute

Pour des raisons matérielles nous n'avons pas utilisé les méthodes d'analyses préconisées par la norme. Nous avons eu la chance grâce à Mme Taste de faire des expériences de dénombrement de nos deux espèces de bactéries (*Escherichia coli* et Entérocoque), avec les méthodes suivantes.

b. Le dénombrement d'*Escherichia coli* :

La première étape de la manipulation est la préparation de l'échantillon. Les valeurs seuils étant en concentration de bactéries par gramme de MB, nous sommes partis sur un échantillon de 1 g de matière. Ce gramme a été pesé grâce à une balance, une spatule est mise dans un tube à essai avec 9 ml d'eau physiologique. Cet échantillon ainsi préparé sera notre pur. Cette manipulation et toutes les autres ont été faites près d'un bec bunsen afin de respecter une certaine stérilité et éviter une possible contamination par des bactéries ou des germes étrangers à nos échantillons.

La turbidité et la concentration en bactérie du pur étant trop importantes, nous avons effectué des dilutions en cascade (figure 5). Nous avons donc transvasé 1 ml du pur à l'aide d'une pipette graduée de 1 ml, dans 9 ml d'eau physiologique. Avant le transvasement du pur vers les 9 ml d'eau physiologique, il est important d'homogénéiser le tube à essai de pur grâce à un agitateur vibrant. Ces actions nous ont permis d'obtenir une première dilution au dixième (1/10).



Figure 5 : Tubes à essai pour une dilution en cascade
(source : Kaïna Homawoo)

Afin d'avoir une dilution au centième (1/100), 1 ml de la dilution au dixième est prélevée toujours avec une pipette graduée stérile de 1 ml et est mise dans un tube à essai avec 9 ml d'eau physiologique.

Ces manipulations terminées nous avons 3 tubes à essais :

- Un pur (1 g d'échantillon dans 9 ml d'eau physiologique)
- Une dilution au dixième (1 ml de pur dans 9 ml d'eau physiologique)
- Une dilution au centième (1 ml de la dilution au dixième dans 9 ml d'eau physiologique).

Chaque tube va permettre d'ensemencer 9 ml de DMS³. A l'aide d'une pipette graduée de 10 ml stérile, l'intégralité de chaque tube est transférée dans 9 ml de DMS. Le DMS est donc dilué au demi (1/2).

On obtient donc 3 dilutions au demi de DMS :

- Une dilution au demi de DMS avec 9 ml de pur dans 9 ml de DMS
- Une dilution au demi de DMS avec 9 ml de dilution au dixième dans 9 ml de DMS
- Une dilution au demi de DMS avec 9 ml de dilution au centième dans 9 ml de DMS

Les dernières dilutions effectuées nous ont permis d'avoir des dilutions du DMS au vingtième (1/20). Pour ça nous avons prélevés 2 ml de chaque dilution avec une pipette graduée de 2 ml et nous les avons transvasés dans 18 ml de DMS.

Finalement, nous avons eu 3 dilutions au vingtième de DMS.

Ces six dilutions de DMS (3 dilutions au demi et 3 dilutions au vingtième), nous ont permis d'ensemencer des plaques du Nombre le Plus Probable (NPP). Ces plaques ont douze rangées de douze puits. Ces-derniers contiennent une substance sélective pour *Escherichia coli*.

³ Diluant spécial pour microplaque

Les 8 premières rangées sont ensemencées grâce à une pipette multi-canaux de 8 cônes avec la dilution au demi, et les 4 dernières rangées avec la dilution au vingtième. Chaque plaque est ensemencée avec les dilutions DMS soit du pur, soit de la dilution au dixième, soit de la dilution au centième. Les manipulations sont résumés sur la figure 6.

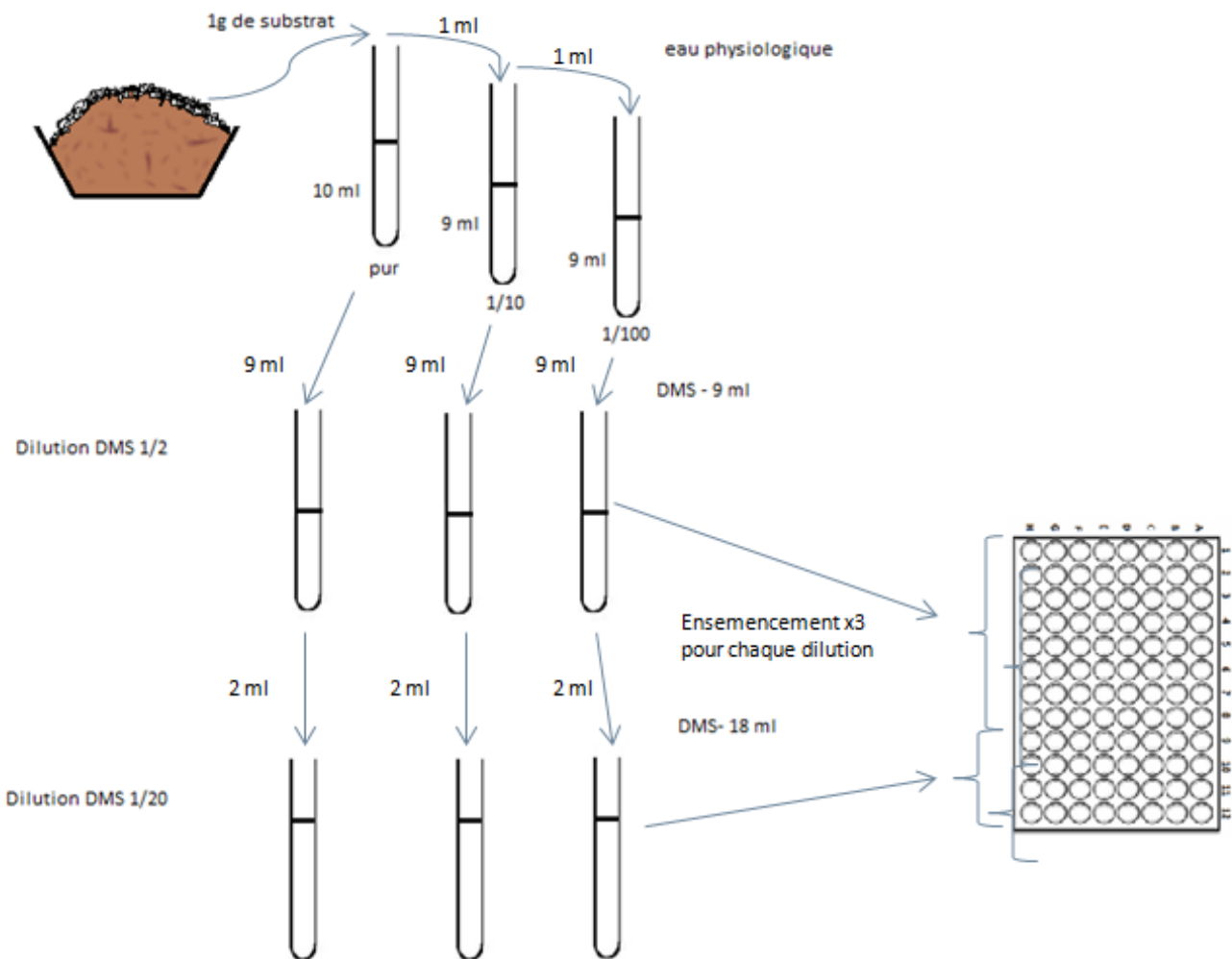


Figure 6 : Schéma de la méthode NPP utilisée pour le dénombrement *des E.coli* (source : Kaina Homawoo)

On a donc obtenu 3 plaques NPP pour *Escherichia coli*. Ces-dernières sont placées dans une étuve pour incubation à 44°C pendant 72h. La lecture des résultats a été faite sous une lampe UV comme le montre la figure 7. En parallèle, nous avons effectué le dénombrement des entérocoques.

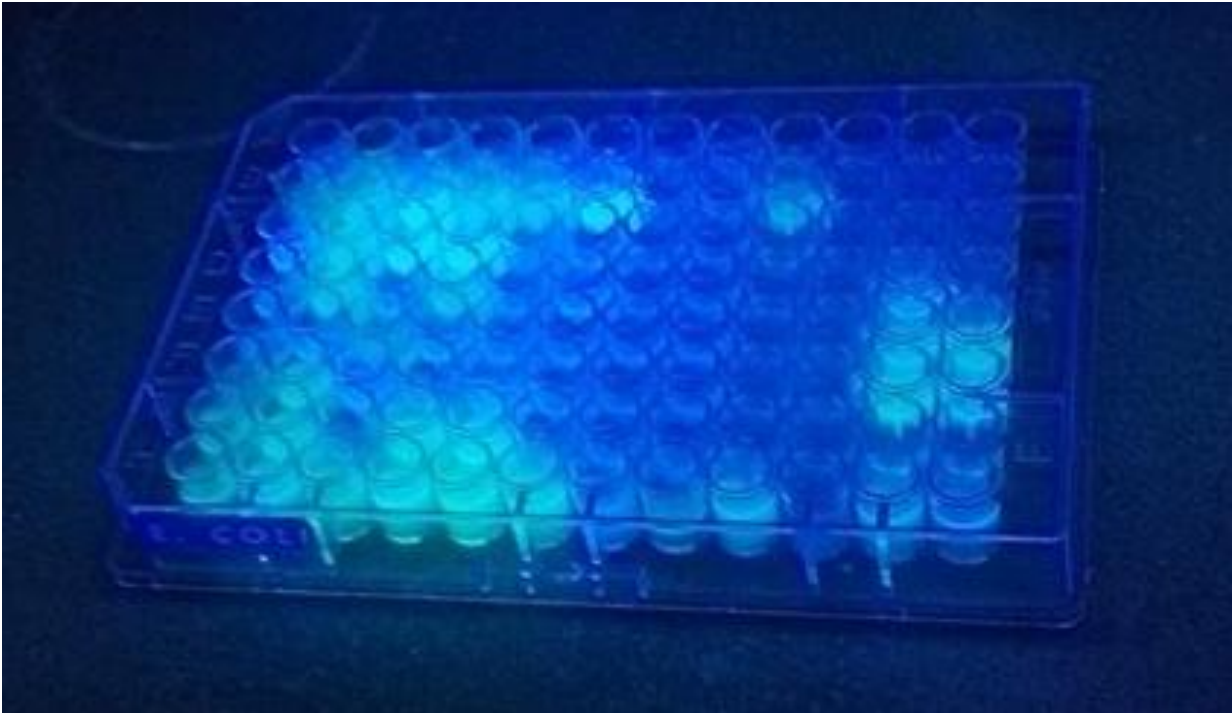


Figure 7 : Plaque NPP d'*E. coli* sous lampe UV (source : Thomas Lamour)

c. Le dénombrement des Entérocoques :

Les manipulations effectuées pour les entérocoques sont quasiment similaires à celles effectuées pour *Escherichia coli*.

Nous avons préparé nos purs de 1 g (figure 9) de chaque échantillon et fait nos dilutions en cascade. La présence des entérocoques étant réputée être plus importante que celle d'*E.Coli*, nous l'avons dilué une fois de plus par rapport à *E.Coli* (jusqu'au millième).

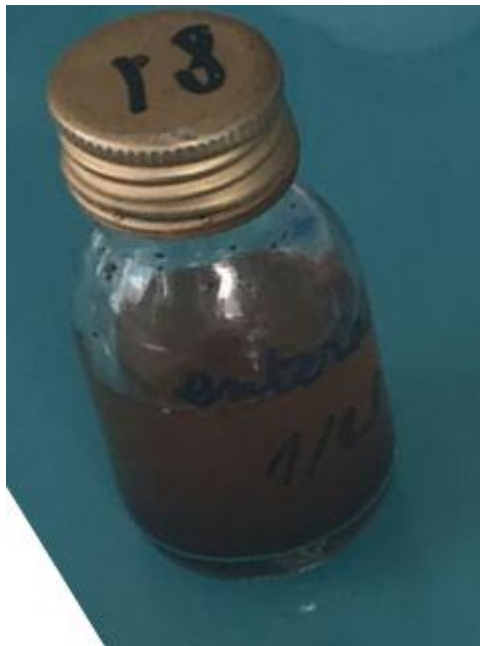


Figure 8 : Pur d'entérocoques (1 g/20 mL)
(source : Kaïna Homawoo)

Nous avons donc obtenu 4 tubes à essai, dont nous n'en avons exploité que 3. Le pur étant vraiment trop dense en entérocoque pour le dénombrement. Soit :

- Une dilution au dixième (1 ml de pur dans 9 ml d'eau physiologique)
- Une dilution au centième (1 ml de dilution au dixième dans 9 ml d'eau physiologique)
- Une dilution au millième (1 ml de dilution au centième dans 9 ml d'eau physiologique)

Ces dilutions ont donc été introduites dans les flacons contenant les DMS afin d'obtenir des dilutions au demi. Ensuite, 2 ml de la dilution au demi ont été ajoutés dans 18 ml de DMS afin d'avoir nos dilutions au vingtième.

Ces deux dernières dilutions sont insérées dans les plaques de NPP. Nous retrouvons dans les puits ; à l'instar des plaques d'*Escherichia coli* ; une substance sélective des entérocoques.

Les plaques ont ensuite été mises à incubation à 44°C pendant 72h, à la fin de cette période, les résultats ont été lu via une lampe UV également.

Une fois les indicateurs de traitement terminés, nous avons lancé les manipulations pour vérifier l'absence de *Salmonella*.

d. La vérification de la présence de Salmonelle :

Pour mettre en évidence sa présence, 1 g de chaque échantillon (sol, compost à chaud, compost à froid) a été pesé avec une balance et introduit dans un tube à essai de 9 mL d'eau peptonée. A l'aide d'un vortex, le contenu des tubes à essais a été mélangé. Ils ont ensuite été placés à l'étuve à 37°C pendant 72H. Cette étape correspond à la phase de développement d'un bouillon, où toutes les bactéries peuvent se développer.

La deuxième étape correspond à l'enrichissement sélectif des salmonelles. Une fois retiré de l'étuve, les bouillons maintenant troubles présentent une flore bactérienne importante. Pour pouvoir isoler les salmonelles, 1 mL de chaque pré-enrichissement a été introduit grâce à une pipette Pasteur dans un bouillon Müller-Kauffmann, puis mélangé avec un vortex. Les bouillons Müller-Kauffmann ont ensuite été placés dans une étuve à 37°C pendant 24H.

La troisième étape a été l'isolement des colonies de salmonelles potentiellement présentes. Deux milieux sélectifs ont été employés. Les milieux retenus pour l'expérience sont une gélose Hektoen ainsi qu'une gélose XLD. L'utilisation de la gélose XLD est imposée par la norme NFU 44-051 [9]. Chaque échantillon a été isolé sur trois géloses XLD et une gélose Hektoen.

L'isolement pratiqué a été en quadrant. Grâce à une anse, un dépôt a été déposé sur un premier quadrant. Puis, avec une pipette pasteur boutonné, des stries serrées sont passées entre le premier et le deuxième quadrant. La même opération a été pratiquée entre le deuxième et le troisième quadrant, puis entre le troisième et le quatrième. Les boîtes de Pétri sont allées dans une étuve à 37°C pendant 24H.

La quatrième étape a été la détection des colonies bactériennes suspectes sur les géloses.

2. Résultats et interprétations

a. Les indicateurs de traitement

La méthode de dénombrement utilisée étant la même pour les *Escherichia coli* et les entérocoques, la lecture des résultats est également similaire. Chaque plaque a été placée sous une lampe UV et le nombre de puits phosphorescent compté. La phosphorescence de ces puits traduit la présence de la bactérie recherchée.

Afin de traduire le nombre de puits par une concentration, il est important de distinguer les puitsensemencés avec des dilutions au demi et les puitsensemencés avec des dilutions au vingtième. Grâce à ces nombres et à la table de Mac Grady, un Nombre le Plus Probable de la concentration en bactérie pour 100 ml de solution a été déterminé. Les résultats obtenus sont restitués dans le tableau 1.

Comme nous pouvons le voir, la table de Mac Grady n'a pas permis d'avoir des résultats concluants pour certains dénombrements (lignes en rouge).

Pour le reste des NPP obtenus, un simple calcul de conversion a été nécessaire afin d'avoir les résultats en bactéries par gramme de sol ou de compost (cf. Matière Brute). Voici un exemple de calcul pour la concentration des entérocoques dans le compost à froid pour la dilution au millième.

Exemple :

NPP = 1399

Soit, nous avons 1399 bactéries / 100 ml de la dilution au 1/1000

Donc $1,399 \times 10^6$ bactéries / 100 ml de pur.

Etant donné qu'on avait 1 g de compost à froid dans 20 ml de pur,

Nous obtenons $\frac{1,399 \times 10^6}{5}$ bactéries / 20 ml de pur ou par 1 g de compost à froid.

Au final on a pour un NPP de 1399, une concentration de $2,789 \times 10^5$ bactéries pour 1 g de compost à froid. Cette conversion a été faite pour tous les NPP obtenus, ci-dessous les résultats calculés.

Tableau 1 : Résultats du dénombrement pour les différents échantillons

		Nombre de puits pour Dilution 1/2	Nombre de puits pour Dilution 1/20	NPP	Bactéries / g	
Sol	<i>E.Coli</i>	Pur	64	1	ND	
		1/10	6	0	94	85
		1/100	1	0	15	135
	Entérocoques	1/10	2	0	30	60
		1/100	1	0	15	300
		1/1000	0	0	0	0
Compost à chaud	<i>E.Coli</i>	Pur	29	8	732	66
		1/10	22	9	>547	>492
		1/100	23	4	495	4553
	Entérocoques	1/10	64	32	ND	
		1/100	62	13	3951	71 836
		1/1000	17	12	ND	
Compost à froid	<i>E.Coli</i>	Pur	15	7	374	34
		1/10	17	1	309	278
		1/100	9	0	144	1296
	Entérocoques	1/10	64	32	>34 659	>69 318
		1/100	64	25	15 199	303 900
		1/1000	46	8	1399	279 800

Certains résultats ne sont pas cohérents. En effet, les différences trop importantes entre les résultats ont justifié leurs suppressions. Ils apparaissent en gris dans le tableau 2 ci-dessus. En fonction de l'échantillon et de la bactérie recherchée, les résultats restants ont été moyennés. Les concentrations retenues pour la comparaison les valeurs seuils sont présentes dans le tableau 2 ci-dessous [9].

Tableau 2 : Comparaison des résultats aux valeurs seuils

	<i>E. coli</i>	Entérocoques
Valeurs seuils en g de MB	100	10 000
Sol	110	180
Compost à chaud	66	71 836
Compost à froid	156	291 850

D'après les résultats obtenus, nous pouvons voir qu'aucun de nos échantillons ne respecte les valeurs seuils fixées pour ces paramètres par la norme NFU 44-051. En ce qui concerne l'analyse sur *E. coli*, nous pouvons observer que seul le compost à chaud respecte les indicateurs de traitements.

La première hypothèse que l'on puisse émettre est que la montée en température du compost à chaud aie permis une hygiénisation partielle. Nous pouvons émettre cette hypothèse car le témoin à l'origine est au-dessus du seuil de référence. Il a donc pu réintroduire *E. coli* au sein des compost. Le compost à froid, quant à lui, ne subit pas une montée en température équivalente au compost à chaud et est également au-dessus de la valeur seuil.

Notre seconde hypothèse est celle d'une variation environnementale. Les composts étant matures, nous pouvons supposer qu'il y avait plus d'*E. coli* dans le compost à froid que dans le compost à chaud, avant une quelconque variation. Les *E. coli* sont sensibles aux changements de leur environnement. Cette hypothétique variation aurait entraînée un abattement de leur concentration dans les échantillons. Ce changement aurait donc fait passer la concentration d'*E. coli* dans le compost à chaud en dessous du seuil mais pas celui

du compost à froid. Cette hypothèse est en accord avec les résultats obtenus pour les entérocoques.

Les résultats en entérocoques montrent que la prolifération bactérienne dans les composts est effective par rapport au sol. Seul le sol respecte la valeur indiquée dans la norme. De plus, nous observons que la concentration en entérocoques est supérieure dans le compost à froid que dans le compost à chaud. Cela tend à confirmer une concentration bactérienne plus importante dans le compost à froid. Contrairement aux *E.coli*, les entérocoques sont moins sensibles aux variations de leur environnement. Leurs présences indiquent une contamination ancienne.

Nous pouvons donc supposer que l'hygiénisation a bien eu lieu dans le compost à chaud mais pas avec une chaleur permettant un abattement en entérocoques suffisant. L'hypothèse sur une variation environnementale est donc probable, car si l'abattement en *E. coli* est suffisant il devrait aussi l'être pour les entérocoques.

b. Salmonelles

En ce qui concerne les Salmonelles, aucune colonie suspecte n'a été trouvée sur les géloses XLD et Hektoen. Il n'y a donc pas de *Salmonella* dans 1 g de nos échantillons. Si cela avait été le cas, une galerie API 20E aurait été utilisée pour confirmer les soupçons. Le critère micro-biologique testé de la norme est conforme.

III. Pour aller plus loin : test du Cresson

1) Manipulation

Afin de vérifier si un compost est de bonne qualité, il est nécessaire d'en tester la maturité. En conséquence, nous avons suivi le protocole de la norme FD U44-165 [10].

Nous avons étudié deux échantillons au cours de cette expérience. Tout d'abord, le sol d'une terre non cultivée a été utilisé comme témoin. Le premier échantillon est un compost à chaud provenant d'un composteur situé à la faculté de Grandmont. Le deuxième échantillon est un compost à froid provenant d'un composteur situé à la faculté de Grandmont également. Les deux composts ont la même composition de déchets.

A partir de ces échantillons, destinés à être utilisés comme amendements organiques, la norme recommande que ceux-ci soient mélangés avec l'échantillon de sol. Dans ce mélange, le sol représente 60% de la masse introduite dans le pot.

La première étape de l'expérience a donc été de peser la masse maximale d'un pot rempli de terre. Pour cela, un pot a été placé sur la balance. La balance a été taré, puis rempli jusqu'à un repère identique à chaque pot. La masse moyenne des pots était de 200 g. Grâce à cela, nous avons pu en déduire la masse de sol et de compost respective dans chaque pot.

Une fois bien mélangée à l'intérieur du pot, nous avons planté de manière régulière 25 graines de cresson dans chaque pot à environ 5 mm de profondeur. Une fois les graines plantées, nous avons disposé les pots dans deux bacs de photographes. Le placement des pots dans les bacs a été choisi car la zone d'essai est hétérogène (figure 9). La disposition, est dite « en bloc ». Les bacs ont ensuite été remplis pour qu'il y ait une hauteur d'eau de 2 cm. Pour que les échantillons soient bien humides, 100 mL d'eau ont été ajoutés à chaque pot. Les pots ont ensuite été placés proche d'une fenêtre.



Figure 9 : Disposition en "bloc" (source : Erwan Beaulieu)

Au bout de 72 heures, nous avons de nouveau arrosé les pots et avons compté le nombre de plantules émergées. Puis, à 7 jours, nous avons compté le nombre de plantules normales émergées et le nombre de plantules anormales émergées. Avec une paire de ciseaux, nous avons coupé les plantules au ras de la terre. Pour finir, nous avons pesé la biomasse aérienne fraîche des plantules normales à 7 jours pour chaque pot. Nos résultats ont été analysés grâce à une analyse de variance.

2) Résultats et interprétations

Les données récoltées sont consignées dans le tableau 3 ci-dessous.

Tableau 3 : Résultats bruts à différents jours

	Sol	Compost à chaud	Compost à froid
Plantules totales émergées à 3 jours (t3)	$18 + 14 + 15 + 16 = 63$	$23 + 16 + 21 + 24 = 84$	$16 + 21 + 17 + 21 = 75$
Plantules normales totales émergées à 7 jours (n7)	$19 + 15 + 15 + 16 = 65$	$21 + 15 + 21 + 22 = 79$	$16 + 19 + 19 + 19 = 73$
Plantules anormales totales émergées à 7 jours (a7)	$1 + 3 + 0 + 1 = 5$	$2 + 1 + 2 + 0 = 5$	$2 + 2 + 2 + 2 = 8$

Ces résultats nous ont permis d'effectuer les calculs de pourcentage demandés dans la norme [10]. Soit :

- Le pourcentage total de plantules émergées à 3 jours :
 $Pt3 = (t3/ N) \times 100$
- Le pourcentage de plantules normales émergées à 7 jours :
 $Pn7 = (n7/N) \times 100$
- Le pourcentage de plantules anormales émergées à 7 jours :
 $Pa7 = (a7/N) \times 100$

Avec N = nombre de graine plantées sur les 4 pots, soit N = 100

Le tableau 4 récapitule les résultats obtenus.

Tableau 4 : Pourcentage de plantules obtenues à différents jours

	Sol	Compost à Chaud	Compost à froid
Pt3	63 %	84 %	75 %
Pn7	65 %	79 %	73 %
Pa7	5 %	5 %	8 %

Les résultats bruts pour la biomasse aérienne des plantules normales à 7 jours (Bn7) :

- Sol : 2724 mg
- Compost à chaud : 4230 mg
- Compost à froid : 2844 mg

Toujours grâce à la norme FD U44-165, nous avons pu calculer la biomasse aérienne moyenne d'une plantule normale à 7 jours selon le calcul suivant [10]:

$$B = Bn7 / n7$$

Cela nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- 41,9 mg pour une plantule du sol
- 53, 5 mg pour une plantule du compost à chaud
- 38,9 mg pour une plantule du compost à froid

Les pourcentages de plantules ont été interprétés avec des analyses statistiques grâce au logiciel PAST version 3,16 (Hammer, Ø., Harper, D.A.T., Ryan, P.D. 2001.) ; en utilisant un risque alpha de 5 %. Pour les comparaisons de substrat deux à deux, la correction de Bonferroni a été appliquée. Le seuil de significativité sera donc de 0,0167 afin d'obtenir un risque alpha de 0,05. Alors que la biomasse aérienne des plantules a été interprétée avec un graphique, car les données par pot n'ont pas été récupérées.

Le premier test statistique effectué a pour but la mise en évidence de l'influence du substrat sur la germination du cresson alénois (figure 9). Il en a découlé que le type de substrat a une influence significative sur la germination ($p=0,0033$, test du χ^2 d'indépendance) ; au risque 5 % de se tromper. Cette significativité nous a permis de comparer les substrats deux à deux.

Nous avons commencé par comparer le sol avec le compost à chaud. Nous voulions savoir si le taux de germination était significativement différent. Le compost à chaud entraîne une hausse significative de la germination (84 %) par rapport au sol (63 %) ($p = 0,002$, test du χ^2 d'indépendance).

Les comparaisons suivantes (sol/compost à froid et compost à chaud/compost à froid) ne présentent pas de différences significatives :

- Pour le sol (63 %)/compost à froid (75 %) on a obtenu : $p = 0,0925$, test de χ^2 d'indépendance.
- Pour le compost à chaud (84 %)/compost à froid (75 %) on a obtenu : $p = 0,1648$, test de χ^2 d'indépendance.

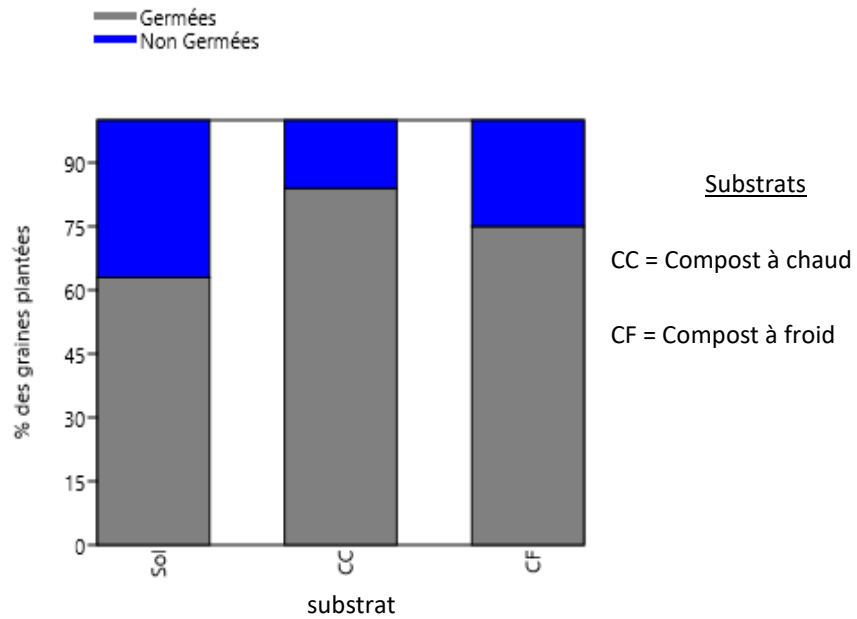


Figure 10 : Histogramme du taux de graines germées par rapport au substrat

La deuxième étape des tests statistiques a porté sur la normalité des plantules à 7 jours. Nous voulions savoir si le substrat a eu un influence significative sur le taux d’anormalité chez le cresson alénois (figure 12). Il s’est avéré que cette expérience n'a pas permis de montrer que le type de substrat a eu une influence significative sur le taux d'anormalité des plantules ($p = 0,6142$, test de X^2 d’indépendance) au risque 5% de se tromper.

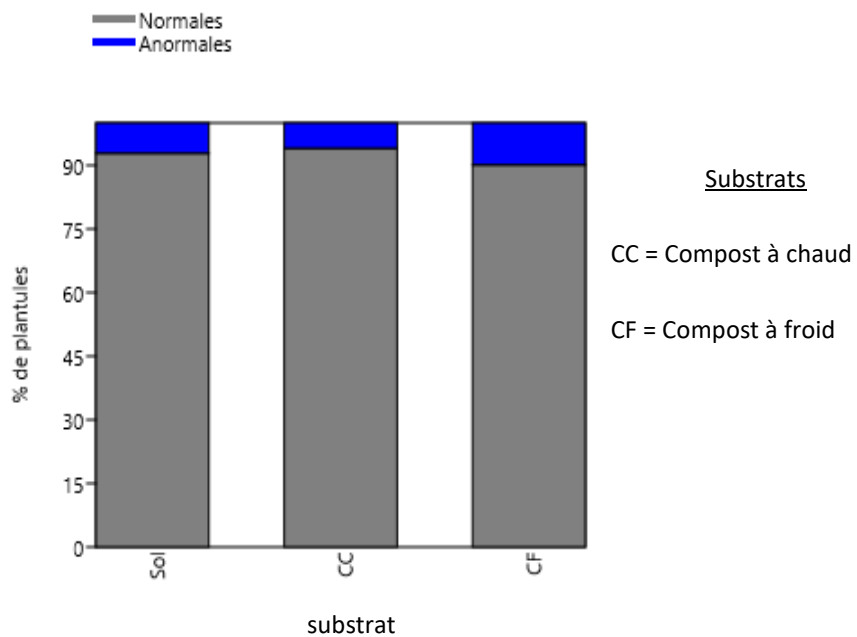


Figure 11 : Histogramme du taux de plantules anormales par rapport aux substrats

L'interprétation de la figure 12 montre que la biomasse aérienne d'une plantule ayant poussée sur du compost à chaud est plus importante que celle des autres substrats. A contrario, le compost à froid est celui où la biomasse aérienne moyenne des plantules est la plus faible. Cette dernière reste très proche de la biomasse aérienne moyenne des plantules du sol. Il semblerait que le compost à froid n'ai pas une influence drastique sur la biomasse du cresson alénois.

L'hypothèse émise suite à ces résultats est que le rapport entre la matière azoté et la matière carboné (50/50) n'est pas agronomiquement intéressant.

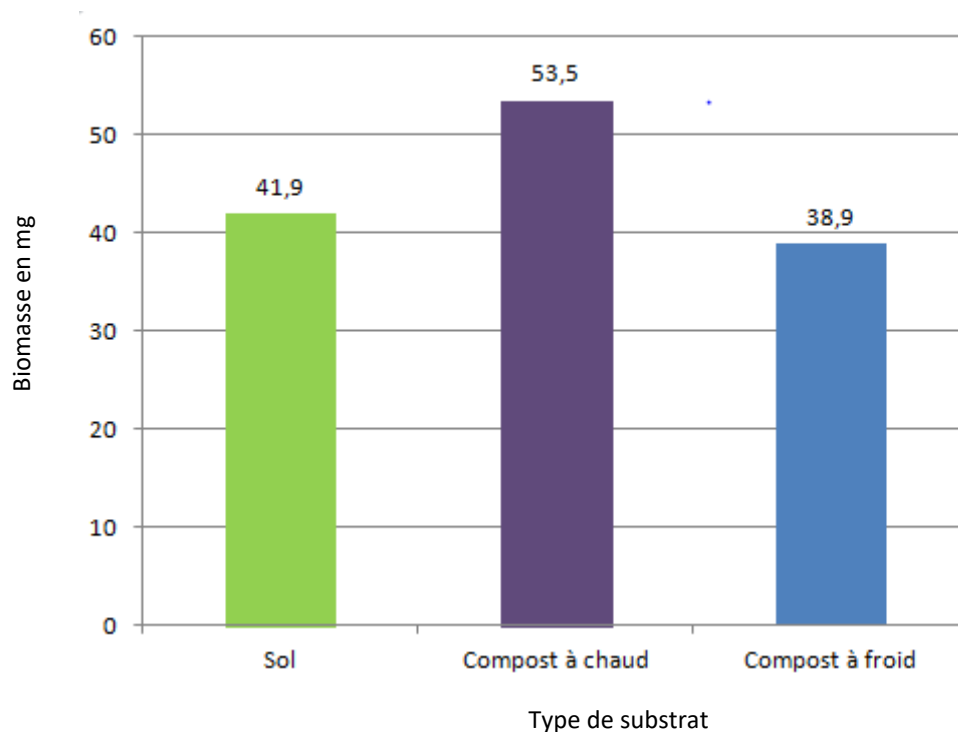


Figure 12 : Histogramme de la biomasse aérienne moyenne d'une plantule en fonction des substrats

Conclusion

Au vu des seuls résultats obtenus et des différentes expériences menées, nous ne pouvons conclure du caractère plus sain du compost à froid par rapport au compost à chaud. Cette absence d'affirmation est la conséquence d'analyses adaptées à un compost industriel, alors que les composts testés sont de type partagés et artisanaux [9].

C'est sur cette norme que nous avons récupéré des valeurs seuils pour les Salmonelles et les indicateurs de traitement. Or, cette norme impose de nombreuses analyses complémentaires telles que la recherche d'œufs d'Helminthe, les éléments trace métallique (Arsenic, Cadmium, Chrome, Plomb ...), les inertes et impuretés (verre, plastique) et les composés traces organiques (Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques).

Cependant si l'on s'appuie sur les résultats obtenus avec les indicateurs de traitement, le compost à chaud et le compost à froid n'ont ni l'un, ni l'autre une bonne hygiénisation. Mais il est également important de préciser, que les analyses ont été effectuées alors que les composts n'étaient pas encore à maturité complète, mais en plein processus de décomposition. A l'inverse, l'absence de Salmonelle dans les composts les rends commercialisables.

Deux tests parallèles ont été effectués. Un sur le rapport carbone/azote a été tenté, mais une turbidité trop importante des échantillons testés a empêché de voir le virage colorimétrique. Ce qui a faussé les résultats. Le protocole utilisé n'était en effet pas adapté à du compost, mais à du sol. L'autre sur la maturité des composts. Il est apparu que le compost à chaud permet une meilleure germination et donne des plantules avec une biomasse aérienne plus importante. En revanche, le compost à froid ne semble pas avoir un effet agronomique positif.

Une réponse représentative de l'état sain d'un compost à froid par rapport à un compost chaud aurait été possible avec une répétition des expériences. Ces expériences supplémentaires devraient intégrer différents composts, à différentes maturités et dans différents types de composteur. La répétition devra être statistiquement significative pour pouvoir correctement répondre à notre problématique.

Bibliographie

- [1] Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie, mars 2018. – Les biodéchets dans les collectivités : c'est le moment de se former.
- [2] Prévention déchets Corrèze. - [en ligne] [consulté le 06/05/2018]. Disponible sur : <http://www.preventiondechets.correze.fr/compostage/le-compostage/>
- [3] NOËL Laurence, CARRE Jean, LEGEAS Michèle, 29 avril 2002. - Rapport d'étude : éléments pour la prise en compte des effets des unités de compostage de déchets sur la santé des populations riveraines. – [en ligne] [consulté le 06/05/2018]. Disponible sur : http://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/Elements_pour_la_prise_en_compte_des_effets_des_unites_de_composta_de_dechets_sur_la_sante_des_populations_riveraines.pdf
- [4] LECLERC Blaise, PLUMAIL Dominique, CHENON Pascale, mars avril 2008. - Production et qualité des composts de déchets verts en France métropolitaine. - [en ligne] [consulté le 06/05/2018]. Disponible sur : http://echo-mo.pagesperso-orange.fr/article_Echo_mo_70.pdf
- [5] LECLERC Blaise, septembre 2012. - Compostage : les principes. - [en ligne] [consulté le 06/05/2018]. Disponible sur : http://www.compostage-paca.fr/wp-content/uploads/2015/10/Compostage_Principes-ChambreAgriculturePACA.pdf
- [6] Touraine Est Vallées. – Brochure guide du compostage [en ligne] [consulté le 22/05/2018]. Disponible sur : http://www.touraineestvallees.fr/medias/2015/10/guide_compostage2014-1.pdf
- [7] Bureau Hélène, septembre 2012. -Faire son compost. - [en ligne] [consulté le 06/05/2018]. Disponible sur : http://presse.ademe.fr/files/guide_ademe_compostage_domestique.pdf
- [8] GALERA Mathieu et GALERA Romain, La source de Garouvin, 2018. - [en ligne] [consulté le 06/05/2018]. Disponible sur : <https://la-source-de-garouvin.fr/methode-de-compostage.php>

[9] ASSOCIATION FRANCAISE DE NORMALISATION, 2018. – Amendements organiques — Dénominations, spécifications et marquage. – NF U44-051 COMPIL 2. Saint Denis La Plaine : AFNOR, 30p

[10] ASSOCIATION FRANCAISE DE NORMALISATION, 2015. – Amendements organiques et supports de culture — Test rapide d'évaluation de la maturité d'un compost et de caractérisation des matières premières, vis-à-vis de la germination du cresson. – FD U44-165. Saint Denis La Plaine : AFNOR, 17p