

# DESCRIPTION D'UNE NOUVELLE METHODE DE SUIVI DES GAZ *IN VITRO* PROVENANT DE LITIERES DE VOLAILLES RECONSTITUEES

Joguet Nicolas<sup>1</sup>, Morin-Ogier Quentin<sup>1</sup>, Courtois Valentine<sup>1</sup>, Chalvon-Demersay  
Tristan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centre Mondial de l'Innovation Roullier Pôle Environnement - 18 avenue Franklin  
Roosevelt - 35400 SAINT-MALO

[nicolas.joguet@roullier.com](mailto:nicolas.joguet@roullier.com)

## RÉSUMÉ

L'élevage mondial de volailles a connu une croissance remarquable de la production de viande et d'œufs. Toutefois, cette expansion a entraîné des problèmes environnementaux liés à la production croissante d'ammoniac. Dans cette optique, une méthode *in vitro* a été développée pour suivre les émissions de gaz, notamment l'ammoniac, à partir de litières reconstituées. Inspirée des chambres dynamiques de terrain et des écotrons, cette approche utilise une litière usagée ventilée de manière dynamique, avec une détection automatisée des gaz par un chromatographe en phase gazeuse. Les résultats montrent une cinétique des émissions d'ammoniac en fonction de divers facteurs tels que les taux d'urée, de matières fécales et d'asséchant. La méthode développée permet d'observer une phase de latence des microorganismes suivie d'une production linéaire d'ammoniac, offrant ainsi un moyen contrôlé d'étudier les facteurs influençant ces émissions. En conclusion, cette approche en laboratoire constitue un outil efficace pour explorer des solutions de traitement des déchets d'élevage.

## ABSTRACT

### DESCRIPTION OF A NEW *IN VITRO* GAS MONITORING METHOD FROM RECONSTITUTED POULTRY LITTER

Worldwide poultry farming has seen a remarkable increase in meat and egg production, leading to environmental issues related to the growing emission of ammonia. In response, an *in vitro* method has been developed to monitor gas emissions, including ammonia, from reconstituted litter. Inspired by field dynamic chambers and ecotrons, this approach uses a dynamically ventilated "dirty" litter, with automatic gas detection through a micro gas chromatograph. Results indicate temporal variations in ammonia emissions based on factors such as urea, fecal matter, and drying agent rates. The method allows for the observation of a microbial awakening period followed by linear ammonia production, offering a controlled way to study factors influencing emissions. In conclusion, this laboratory approach serves as an effective tool to explore waste management solutions for poultry farming.

## INTRODUCTION

L'émission d'odeurs provenant de la litière dans les poulaillers de poulets de chair peut causer des problèmes dans la zone environnante, entraînant potentiellement des nuisances olfactives ou environnementales sous forme de gaz. Ces gaz, naturellement produits dans la production de poulets de chair, sont principalement liés à l'activité microbienne dans la litière et aux émissions animales (Pillai *et al.*, 2012). La litière est identifiée comme la principale source de gaz (hors respiration animale), libérant la majorité des composés odorants lors de la décomposition de la matière organique (Hobbs *et al.*, 2004). Les odeurs des poulaillers de poulets de chair comprennent un mélange complexe de composés organiques volatils (COV) et de non-COV, tels que l'ammoniac, le sulfure d'hydrogène et les composés soufrés réduits (Cai *et al.*, 2007). Ce travail s'intéresse à la production de molécules non COV, et plus précisément aux principaux gaz émis par les litières de volaille : le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), et l'ammoniac (NH<sub>3</sub>). Le CO<sub>2</sub> est produit par la dégradation aérobie et anaérobie de la biomasse composant la litière (paille, sciure de bois etc...) induit par l'activité des micro-organismes environnementaux et commensaux du poulet. Le NH<sub>3</sub> est également issu de la dégradation de la matière organique, mais plus particulièrement des molécules azotées, principalement l'urée et l'acide urique des fèces (Dunlop *et al.* 2015). Différentes méthodes sont utilisées dans la littérature pour suivre les émanations des litières de poulet en élevage (méthode passive ou chambre dynamique, etc.) ainsi que l'influence des paramètres physiques (température, consistance...) et biochimiques (micro-organisme, pH... exemple : Le Cadre E. *et al.*, 2005). Ces méthodes sont, soit déployées directement en élevage pour suivre au plus près les émanations gazeuses, soit en laboratoire à partir d'échantillons de litière prélevés sur le terrain. La première méthode demande du matériel onéreux et une logistique importante, obligeant à travailler à l'échelle d'un groupe d'animaux représentatif, voire d'un élevage, laissant peu de possibilité de faire varier les paramètres importants (matière sèche, substrat de litière, etc...). La deuxième méthode permet de faire varier les paramètres facilement (par exemple par l'ajout d'un additif *in vitro*, ou une modification artificielle de la matière sèche) mais le prélèvement de l'échantillon de départ est primordial pour une bonne représentativité des résultats, et empêche une bonne répétabilité dans le temps. La méthode présentée dans le cadre de cette étude, permet de reconstituer une litière selon une formulation stable et répétable dans le temps et d'analyser sa cinétique de production de CO<sub>2</sub> et de NH<sub>3</sub>, selon différents facteurs, à l'échelle laboratoire.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Description du montage de volatilisation

Le montage expérimental consiste en un système de chambre dynamique, où la litière reconstituée à étudier est contenue dans une colonne avec une entrée d'air et une sortie d'air. La colonne est de diamètre 4 cm et de longueur de 30 cm, en PVC transparent, équipé de raccord rapide pour tube souple 4x6 mm (PUN-H-6x1 Festo, France). En amont des colonnes, l'air ambiant est pulsé dans le système par une pompe à air, ce qui permet d'apporter un flux d'air à plusieurs colonnes. Ce débit est contrôlé et réglé colonne par colonne grâce à des débitmètres (model 3A12 0.05-0.5 LPM Air Brook Instrument, USA) à 0.05 litre par min. En sortie de colonne, un piège froid (100ml) sert à récupérer les éventuels condensats. Le flux d'air est dirigé vers la multivoie (Vici Valco selector valve 16 streams) connectée à un micro chromatographe en phase gazeuse (Inficon Micro GC fusion, Chemlys, France) pour analyse des molécules de gaz. La litière sale reconstituée est un mélange de paille de blé broyée (4mm), d'engrais de poule granulé (Galinapur NPK 4-3-2, Galles SAS, Lescout, France), d'urée (46% de N, Timac Agro, France) et d'eau. La formulation témoin est constituée de 73% m/m d'engrais de poule, 3% m/m d'urée et 24% m/m de paille, le tout est réhydraté pour obtenir une matière sèche finale de 33% m/m. Dans chaque colonne est pesé 116g du mélange. La colonne remplie est aussitôt connectée au montage de volatilisation. Un test avec un asséchant litière a été réalisé en mélangeant 1g d'Actisan 360 (Timac Agro, France) par colonne.

### 1.2. Méthode d'analyse des gaz

Les flux d'air provenant des colonnes de litière sont amenés dans une Multivoie à 16 entrées et 16 sorties. Selon la séquence d'analyse, les flux d'air de chaque voie sont redirigés vers la Micro GC de façon automatisée et régulière. La température de l'injecteur est réglée à 70°C. La séparation des molécules de CO<sub>2</sub> et de NH<sub>3</sub> est réalisée dans une colonne RT-Q-Bond 0.25 mm (10m), avec de l'hélium en gaz vecteur (99.99%). Une rampe de température de 10°C/s jusqu'à un plateau de 40s à 150°C est utilisée pour améliorer la séparation et la détection des pics. La détection est faite par conductivité thermique (TCD) à 70°C.

### 1.3 Méthode de dénombrement microbiologique

Pour le suivi de la population bactérienne en parallèle avec les cinétiques de production de gaz, un protocole d'analyse séquencé a été utilisé. Une série de 7

colonnes utilisant le mélange initial de litière sale a été étudiée pour une cinétique de 65h. À des temps choisis coïncidant avec les évolutions de cinétique de la courbe gaz (plateau, accélération, stabilisation...), une colonne a été retirée du montage pour réaliser un prélèvement de 30g de litière reconstituée. Cet échantillon est ensuite dilué au dixième dans 90ml de Tryptone sel (Biokar, France), et homogénéisé pendant 15min. Des dilutions en série (de  $10^5$  à  $10^{10}$ ) ont été réalisées avant l'ajout d'un milieu nutritif TSA (tryptone caséine soja, Merck, USA). Le dénombrement en unité formatrice de colonie (UFC/ml) a été réalisé après coulage des boîtes et incubation 3 jours à 30°C.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

Les productions de  $\text{NH}_3$  et de  $\text{CO}_2$  des litières simulées ont été suivies de façon concomitante grâce au montage expérimental sur une période de 96h. Les courbes bleues (formulation de litière sale témoin) montrent que le  $\text{CO}_2$  est le premier gaz à être produit, quelques heures après le début de l'analyse (Figure 1). Son pic de production est atteint à environ 24h, avec un taux de  $\text{CO}_2$  dans le flux d'air mesuré à 3% environ. Ce taux diminue progressivement pour s'établir à environ 1 % au bout de 96h. Si l'on compare avec la courbe de production de  $\text{NH}_3$  (figure 1 A), il est intéressant d'observer que la production de  $\text{NH}_3$  n'apparaît qu'au bout de 24h (c'est-à-dire au pic de production du  $\text{CO}_2$ ) avant de s'établir à environ 0.8 % dans le flux d'air. En faisant varier la formulation de la litière sale, les cinétiques apparaissent modifiées. En doublant la quantité de matière fécale, (figure 1A et 1B, courbes rouges), les cinétiques de  $\text{CO}_2$  et de  $\text{NH}_3$  sont visiblement écalées dans le temps. En divisant cette quantité par deux (figure 1A et 1B, courbes vertes) l'ammoniac est produit de façon anticipée par rapport au témoin alors qu'il y a environ deux fois moins de  $\text{CO}_2$  produit. Dans ce modèle de litière simulée, la matière fécale de l'engrais apporte de la matière organique et des micro-organismes. Ces deux paramètres influencent à la fois le rapport C/N du mélange et la quantité de bactérie métabolisant la matière organique. L'azote uréique est possiblement utilisé pour le développement bactérien en priorité, avant d'être dégradé en  $\text{NH}_3$  d'où le décalage des courbes dans le temps (Koerkamp, 1994). Les figures 1C et 1D montrent qu'en faisant varier la quantité d'urée, les cinétiques de  $\text{NH}_3$  et de  $\text{CO}_2$  sont de nouveaux modifiées. En effet, le fait de doubler la quantité d'urée (Figure 1 C et 1D, courbes rouges) augmente la quantité de  $\text{NH}_3$  produit mais impact négativement la courbe de production du  $\text{CO}_2$ . Le fait de diviser la quantité d'urée par deux (figure 1C et 1D, courbe verte) a tendance à ralentir légèrement la production de  $\text{NH}_3$  mais augmente sensiblement la production de  $\text{CO}_2$ . L'augmentation de la quantité d'urée (et donc d'azote) dans le mélange modifie le rapport C/N, et

doit donc influencer le métabolisme bactérien. Rendre l'azote plus disponible dès le départ favoriserait d'après ces résultats la production de  $\text{NH}_3$  au détriment de l'utilisation du carbone disponible.

La figure 2 présente la production de  $\text{NH}_3$  et de  $\text{CO}_2$  en comparaison avec un comptage microbiologique de la flore mésophile totale aérobie, pour une litière témoin et une litière additivée d'asséchant litière. Les résultats de la litière témoin montrent que le  $\text{CO}_2$  est le premier gaz produit avec un pic à 2.5% (à environ 20h) et une stabilisation entre 1.5% et 1%. Le pic de développement bactérien (30h) est concomitant avec le pic de production de  $\text{NH}_3$  (qui débute à 20h et se stabilise vers 30h à 0,6%). Ces résultats peuvent indiquer que l'utilisation du carbone et de l'azote disponible est priorisée pour le développement bactérien. L'ajout d'asséchant litière décale légèrement la cinétique de  $\text{CO}_2$  mais inhibe très clairement la cinétique de  $\text{NH}_3$  (apparition plus tardive à 36h et taux ne dépassant pas les 0.4%). De plus, aucun pic bactérien n'est visible avec cette asséchant, pouvant laisser penser à une influence sur le développement bactérien, et donc sur la cinétique de production des gaz.

## CONCLUSION

La méthode présentée dans cette étude offre une approche systématique pour surveiller la production des gaz clés associés à la pollution générée par l'élevage aviaire. Le suivi du  $\text{NH}_3$  et du  $\text{CO}_2$  a été réalisé sur différentes formulations de litière simulée, où les quantités d'urée et de matière fécale ont été modulées. Les cinétiques obtenues sur une période prolongée permettent une compréhension approfondie des étapes cruciales du processus de production des gaz. En intégrant le comptage microbien à des intervalles définis au cours de la cinétique gazeuse, il devient possible de corréler le développement bactérien au sein de la litière avec la production de  $\text{NH}_3$  ou de  $\text{CO}_2$ . Cette approche offre des conditions expérimentales robustes et fiables, avec une automatisation de l'analyse permettant un suivi sur le long terme. Cette méthodologie a également été appliquée à l'exploration de divers paramètres, tels que le type de litière (sciure de bois, tourbe...), offrant ainsi une fine caractérisation de l'influence des additifs éventuellement introduits pour moduler le développement microbien ou la production d'ammoniac dans la litière aviaire, tout en offrant une méthodologie polyvalente pour les investigations futures. Cette appréhension détaillée des paramètres s'avère bénéfique pour anticiper de manière plus précise le comportement des produits sur le terrain. Cependant, il est important de noter que l'applicabilité de cette méthode peut rencontrer des défis, notamment en raison des limitations méthodologiques inhérentes aux conditions de laboratoire. De plus, bien que ces avancées puissent offrir des perspectives prometteuses, les résultats obtenus en laboratoire

doivent être interprétés avec discernement et considérés dans le contexte de leurs limites méthodologiques, soulignant ainsi la nécessité d'une approche incluant des phénomènes non

reproductibles, comme l'échauffement de la litière, l'hétérogénéité inhérente du bâtiment ou le comportement des animaux (grattage)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Pillai S.M., Parcsi G., Wang X., Stuetz R.M., 2012. Chem.Eng.Trans. (30), 247-252  
Hobbs P.J., Wenn J., Mottram T.T., Grant B., Misselbrook T.M., 2004. J.Sci.Food Agric. (84), 1414-1420  
Cai L., Koziel J.A., Liang Y., Nguyen A.T., Xin H., 2007. J.Environ.Qual (36), 184-193  
Dunlop M.W., Blackall P.J., Stuetz R.M., 2015. J.Environ.Manage (177), 306-31  
Le Cadre E., Générumont S., Decuq C., Cellier P., 2005. Agron. Substain. Dev (25), 101-107  
Koerkamp G., 199.J.Agric.Engng.Res. (59), 75-87

**Figure 1.** Evolution des cinétiques d'apparition du  $\text{NH}_3$  et du  $\text{CO}_2$  dans les litières simulées : en A et en B : influence sur respectivement le  $\text{NH}_3$  et le  $\text{CO}_2$  de la quantité d'engrais de poule. En C et en D : influence sur respectivement le  $\text{NH}_3$  et le  $\text{CO}_2$  de la quantité d'urée (en bleu courbe témoin, en rouge avec une quantité double au témoin, en vert avec une quantité divisée par deux par rapport au témoin).

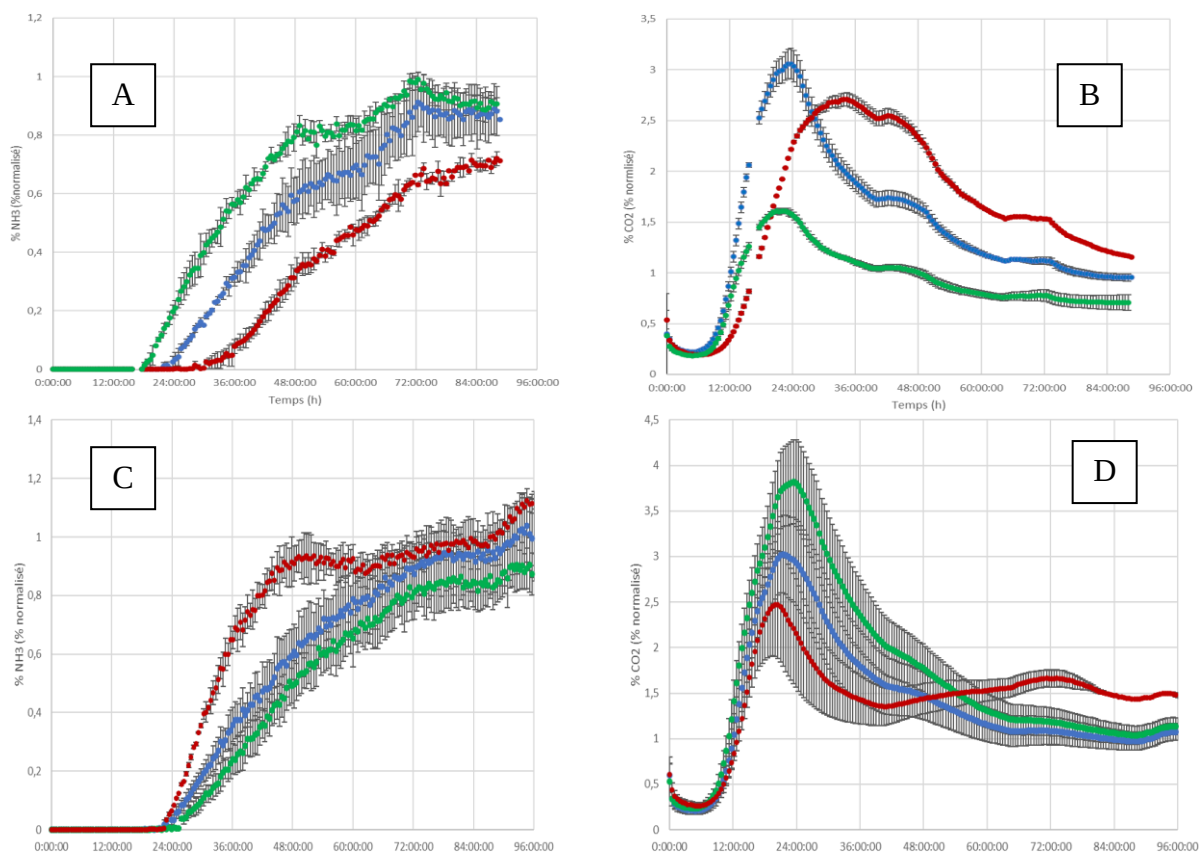


**Figure 2.** Evolution des cinétiques d'apparition du  $\text{NH}_3$  (en vert), du  $\text{CO}_2$  (en bleu) et des micro-organismes (en rouge) dans les litières simulées. En traits pleins les cinétiques concernant la litière témoin, en pointillés les cinétiques concernant la litière additivée d'asséchant litière.

