

Sujet de stage pour MASTER 2

Etude de la dynamique des pathogènes lors du stockage de digestats issus de la méthanisation : influence de déterminants biotiques et de la biodisponibilité de la matière organique

Résumé :

La méthanisation représente l'une des voies de transformation des déchets organiques en digestat destiné à l'épandage agricole et en biogaz utilisable à des fins énergétiques. Bien que la filière de méthanisation représente un atout environnemental majeur, le digestat issu du traitement anaérobie peut présenter un risque sanitaire en raison de l'éventuelle présence de microorganismes pathogènes apportés par les déchets entrants d'origine urbaine ou agricole. De ce fait, la présence potentielle d'espèces pathogènes dans les digestats complique leur valorisation en tant que matière fertilisante lors d'un retour au sol. La plupart des études sur le devenir des microorganismes pathogènes lors du stockage et de l'épandage des digestats sont focalisées sur l'influence de facteurs abiotiques (pH, température, taux de matière sèche et de matière volatile ...) mais peu décrivent l'impact de facteurs biotiques tels que la diversité et l'activité microbienne. Dans un contexte de développement de la filière de méthanisation et de la valorisation des digestats en agronomie, le projet PRObiotic financé par l'ADEME, a pour but d'étudier les paramètres qui conditionnent la survie des microorganismes pathogènes lors du stockage des digestats. Le projet PRObiotic est réalisé en partenariat avec le laboratoire de recherche de Gestion Environnementale et traitement biologique des déchets de l'IRSTEA de Rennes.

L'objectif du stage sera d'étudier l'influence de facteurs tels que (i) la biodisponibilité de la matière organique et (ii) l'activité biologique et (iii) la diversité microbienne dans les digestats sur la survie de trois bactéries pathogènes modèles (*Salmonella* Derby, *Listeria monocytogenes* et *Campylobacter coli*). La survie des bactéries modèles sera évaluée à partir de digestats collectés en sortie de méthaniseurs sur le territoire français traitant différents types de déchets par différents types de procédés.

La biodisponibilité de la matière organique sera étudiée par fractionnement biochimique, analyses spectrales (NIRS, Fluo3D) et tests de potentiel méthanogène (BMP). La diversité microbienne sera caractérisée par des outils moléculaires et du séquençage haut débit et l'activité microbiologique sera analysée par ATPmétrie et hydrolyse enzymatique. La présence de bactéries pathogènes dans les digestats sera démontrée par dénombrement de *E. coli*, indicateur de contamination fécale. Les bactéries pathogènes modèles seront inoculées et leurs survies en microcosme seront étudiées dans des conditions simulant le stockage des digestats. Cette étape nécessitant une habilitation à la manipulation de microorganismes pathogènes sera réalisée à l'IRSTEA de Rennes. La survie des pathogènes sera analysée au LBE par biologie moléculaire (PCR quantitative après extraction ADN). L'ensemble des données sera analysé par des tests statistiques afin de déterminer les facteurs propres à chaque digestat conduisant à un environnement favorable à la réduction des risques microbiologiques. L'étudiant participera aux prélèvements de digestats dans les unités de méthanisation. Il aura donc la possibilité de participer à l'ensemble du processus de recherche, c'est-à-dire du prélèvement jusqu'à l'interprétation des résultats en passant par les différentes analyses décrites ci-dessus.

Techniques utilisées :

- Biologie moléculaire : extraction ADN, PCR, PCR quantitative
- Microbiologie : culture, mesure d'activité par ATPmétrie et hydrolyse enzymatique, tests de potentiel méthanogène (BMP)
- Biochimie : fractionnement de la matière organique et analyses spectrales
- Statistique : tests de corrélation, ANOVA
- Bioinformatique : analyse de données issues de séquençage haut débit

Contact :

Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE)
Avenue des Etangs - 11100 Narbonne, France

Géraldine Maynaud

Tel : 04 68 42 51 94

Email : geraldine.maynaud@supagro.inra.fr