

Université Claude Bernard LYON I
43 Boulevard du 11 Novembre 1918
69622 VILLEURBANNE Cedex I

Diplôme d'études Supérieures

Spécialisés en Informatique documentaire

***. NOTE de SYNTHÈSE**

**Les Inhibiteurs de
la Méthanisation**

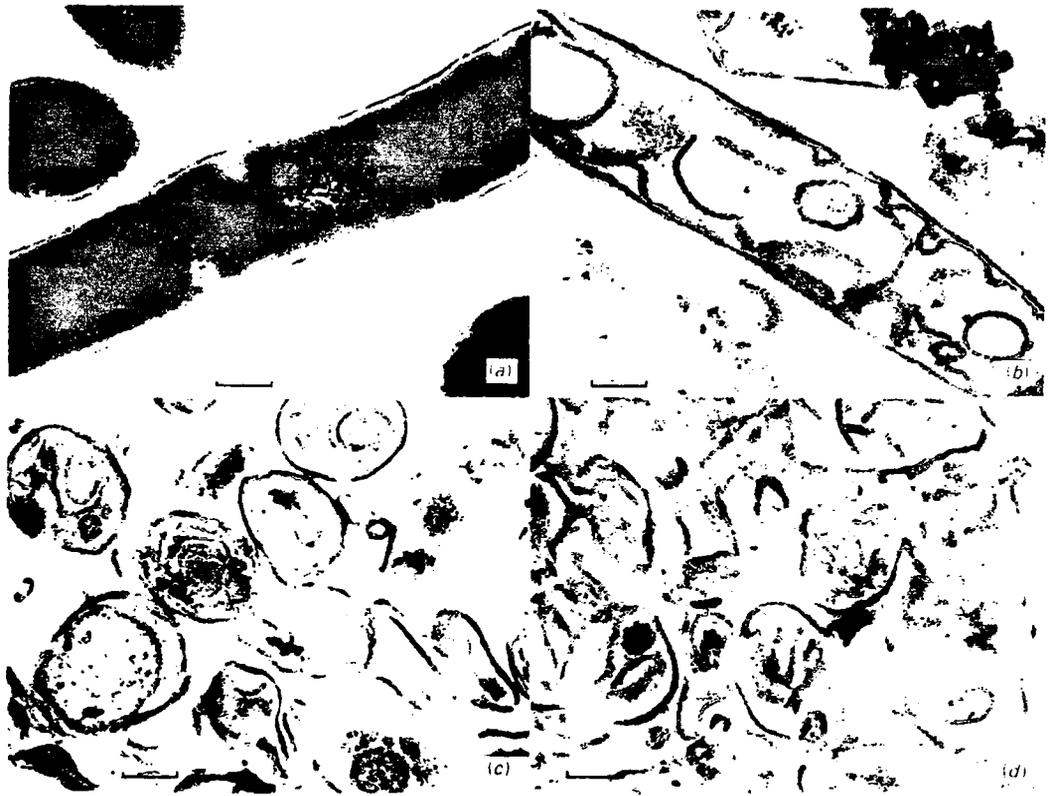
AUTEUR : PLOUD Philippe

DATE : 31 MAI 1985

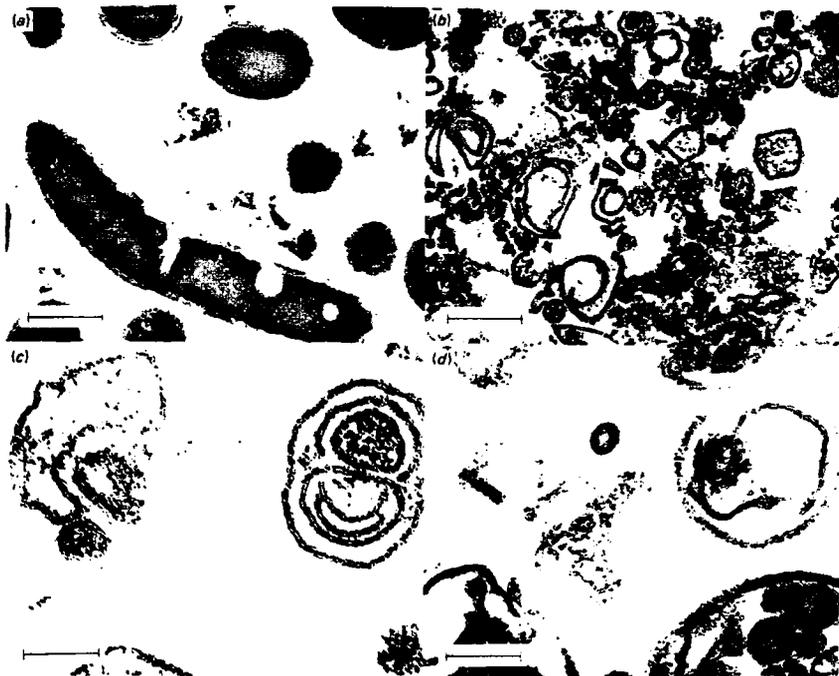


Je remercie Messieurs PERRIER J. et JACOB F.H (laboratoire de microbiologie physiologique et appliquée : Université Claude Bernard, LYON I) pour avoir donné ce sujet de synthèse, ainsi que leur aide et leur intérêt portés à mon travail.

Cette note a été réalisée en collaboration avec Monsieur FOUGERAT Alain étudiant en troisième cycle (thèse) sur les effets des antibiotiques et additifs alimentaires sur la méthanisation de lisiers.



Ultrastructure of Methanobacterium thermoautotrophicum



Ultrastructure of Methanobacterium ruminantium

P L A N

PREMIERE PARTIE

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

1 - DEFINITION DU SUJET

2 - RECHERCHE MANUELLE

3 - RECHERCHE INFORMATISEE

- a) Les banques de données
- b) Les banques de données choisies
- a) Exemple d'interrogation
- d) Documents primaires
- e) Conclusion

DEUXIEME PARTIE

LES INHIBITEURS DE LA METHANISATION

1 - INTRODUCTION

2 - LA METHANOGENESE

3 - BACTERIES METHANOGENES

4 - ACTION DES INHIBITEURS SUR LA PRODUCTION DE METHANE

a) Substances chimiques

b) Antibiotiques

. le monensine

. les autres antibiotiques

5 - MECANISME D'ACTION, IDENTIFICATION, CINETIQUES DES INHIBITEURS

6 - ACTION DES INHIBITEURS SUR LES BACTERIES METHANOGENES

7 - CONCLUSIONS

PREMIERE PARTIE

RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

PLAN

1ère Partie

Recherche bibliographique

I DEFINITION DU SUJET

II RECHERCHE MANUELLE

III RECHERCHE INFORMATISEE

- a) Les banques de données
- b) Les banques de données choisies
- c) Exemple d'interrogation
- d) Documents primaires
- e) Conclusion

I DEFINITION DU SUJET

Le sujet de cette note de synthèse est : les inhibiteurs de la méthanisation.

Dans cette étude, il n'a été tenu compte que de la méthanisation par fermentation anaérobie dans les déchets (urbains, lisiers, végétaux, eaux usées). Cette étude fait suite à la synthèse réalisée par Madame MATAIX Marie-Christine en 1984 sur la méthanisation des ordures ménagères.

C'est pourquoi l'aspect bactérien de la méthanisation a été peu développé ainsi que les facteurs agissant sur l'amélioration de la productivité comme le pH, potentiel rédox.

D'autre part, aujourd'hui beaucoup d'expériences de biométhanisation sont à l'essai soit dans des laboratoires, soit dans des fermes mais il n'existe que très peu d'expériences tenant compte des inhibiteurs.

Actuellement, la recherche porte plus sur les techniques de fermentation, taille des digesteurs, choix des substrats.

II RECHERCHE MANUELLE

Celle-ci permet de bien situer le sujet et de définir les mots clés utilisés pour la recherche informatisée.

Elle consiste en la consultation de fichiers (catalogue alphabétique des matières, catalogue (thèses) et des bulletins signalétiques du CNRS) . Le laboratoire est abonné à la section 215 : biotechnologie et reçoit chaque mois un bulletin de résumés sur les périodiques, congrès, thèses, brevets, ouvrages de la section.

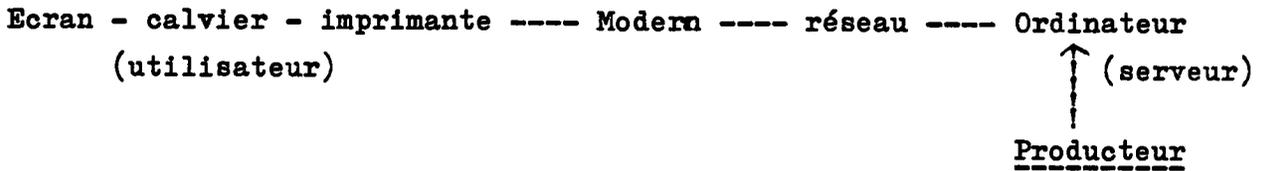
D'autre part, le laboratoire est abonné à 2 revues spécialisées : "Current Contents" (revue de sommaire hebdomadaire) "Applied and Environmental microbiology" Cette recherche manuelle est longue et fastidieuse aussi elle ne peut être exhaustive. Je l'ai donc limité sachant que la recherche informatique me permettrait par exemple de recouvrir les "Chemical et Biological Abstracts".

III RECHERCHE INFORMATISEE

a) Les banques de données :

Définition :

Ensemble d'informations à la présentation normalisée inscrites sur un support exploitable par des moyens informatiques.



Les mémoires des ordinateurs à fonction documentaire doivent être accessibles par un ou plusieurs réseaux de télécommunications. Sur ce (ou ces) réseaux, l'utilisateur installera un point d'accès (terminal d'interrogation). On a un réseau d'information en ligne. Le producteur fournit le contenu de la banque de données. Il collecte, sélectionne, analyse, indexe les documents originaux ; puis transmet les documents secondaires sur bandes magnétiques au centre serveur utilisé pour la commercialisation.

Le serveur charge et stocke les banques de données, élabore et fait fonctionner les logiciels de gestion des données et d'interrogation en conversationnel, qui sont en général propre à un centre serveur et permettent d'interroger l'ensemble des banques de données distribuées par ce serveur.

Ces banques peuvent être bibliographiques, ou factuelles (textuelles ou numériques).

ex : G.C.A.M. (30 banques de données).

L'infrastructure des télécommunications est essentielle à la constitution des réseaux d'informations en ligne.

- Transpac pour la France
- Euronet pour l'Europe
- Tymnet } pour les Etats-Unis
- Telenet }

Transpac :

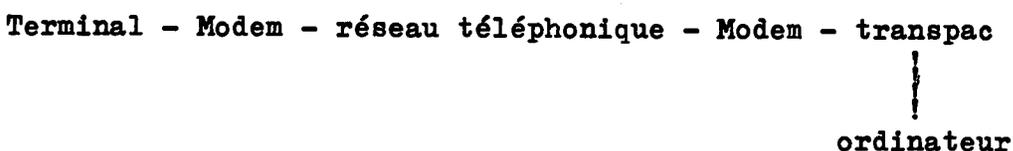
C'est le réseau national de transmission de données utilisant la technique de transmission et de commutation par paquets. Les séquences de données provenant d'un terminal ou d'un ordinateur sont découpées en tronçons appelés paquets. Ils sont pris en charge par un réseau de transport constitué :

- de commutateurs
- d'artères de transmissions (reliant les commutateurs entre-eux)

La vitesse d'accès va de 300 à 48000 bits/sec.

Liaison asynchrone. Full duplex.

Les terminaux ne peuvent être connectés directement au réseau spécialisée



Le Modem : modulateur - démodulateur

Il transforme les impulsions électriques du terminal ou de l'ordinateur en signaux transportables par le réseau téléphonique. L'interrogation des banques ou bases de données accessible sur les différents serveurs se fait avec un terminal (écran, clavier, imprimante)

b) Les banques de données choisies :

NOM	SERVEUR	PRODUCTEUR	COUT/H
BIOSIS	Dialog	Biological	400 F
	ASE	Abstracts	
	Data-star		
PASCAL	Questel	C.N.R.S.	380 F
	ASE		
EUCAS 82	Questel II		470 F
	MSE	Chemical	
	Dialog	Abstracts	
	SDC		
	STN		

Trois autres bases présentant un intérêt secondaire ont pu être interrogées lors du stage de l'U.R.F.I.S.T. et lors d'une visite à I.N.P.I. (institut national de propriété industrielle :)

500 000 brevets depuis 69, Questel II, 500 F/h). Ces 3 bases n'ont donné que des documents peu ou pas pertinents sur le sujet (ce qui était attendu vu les domaines couverts par ces bases), mais elles m'ont permis de bien pratiquer les banques de données.

	RESAGRI	EDF/DOC
Domaines couverts	Agriculture (Economie, techniques agricoles, données sociales, finances, droit).	Electricité scientifique, technologique, économique, social.
Nature	Références bibliographiques	Références bibliographiques
Données enregistrées	Articles de périodiques (900 titres) 70 % des références	600 titres (50 %)
Accroissement	20 000 ref/an	20 000 ref/an
Publication imprimée correspondante	Bulletin bibliographique RESAGRI (mensuel)	Bulletin de documentation (mensuel)
Aides à la recherche	Thésaurus Manuel d'interrogation	Thésaurus EDF à schémas fléchés
Serveur	RESAGRI	IRS - ESA Questel
Producteur	RESAGRI	Electricité de France
Volume	150 000 références	263 000
Début	1972	1972
Coût	318 F	380 F

RESAGRI : Caisse Nationale du Crédit Agricole
 Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)
 Ministère de l'Agriculture
 Union des Caisses Centrales de la Mutualité Agricole

	PASCAL	BIOSIS	EUCA 582
Domaines couverts	Sciences et techniques	Biologie	Chimie Biochimie agro-alimentaire
Nature	Références bibliographiques	Références bibliographiques	Références bibliographiques
Données enregistrées	9 000 périodiques (90 % des références) 62 % Europe 28 % USA 6 600 thèses 10 000 brevets	95500 périodiques 50 % Europe (4 % France) 25 % USA 7 % Japon	14 000 périodiques 15 % USA 9 % France 12 % RFA 20 % Japon
Accroissement	470 000 ref/an	440 000 ref/an	
Publication imprimée correspondante	Bulletin signalétique CNRS	Biological Abstracts	Chemical Abstracts
Aides à la recherche	- lexique des sciences exactes - Thésaurus : sciences de l'information	- Biosis.Search guide - Bio.Serach	
Langues	8 % Allemand 63 % Anglais 12 % Français 10 % Russe	70 % Anglais	63 % Anglais 20 % Russe 3 % Français 5 % Japon
Serveur	IRS - ESA Questel	Dialog IRS - ESA SDC DATA - STAR	Questel II STN SDC DATA - STAR IRS - ESA Dialog
Volume	2 900 000	3 000 000	5 000 000
Cont/h	380	400	400
Début	1973	1973	1967

Il existe aussi PASCAL 73, couvrant périodes 1973 - 1976
et EUCAS 67, 72, 77

Biosis : interrogation faite avec Madame LECOQ représentant
Biosis pour l'Europe

c) Exemple d'interrogation

Le principe de base d'une recherche en ligne repose sur la définition de sous-ensembles pertinents des références contenues dans la mémoire du centre serveur en réalisant des unions et des intersections entre les sous-fichiers de cette mémoire grâce aux opérateurs booléens et, ou, sauf.

La question est formulée grâce aux termes sélectionnés dans un thésaurus ou dans un lexique. C'est un outil indispensable pour une bonne formulation de la question et permet notamment à partir des descripteurs d'éviter le bruit (trop de références non pertinentes) ou le silence (trop grande spécificité des termes retenus dans la question par rapport à ceux qui ont été retenus lors de l'indexation.)

Le thésaurus permet donc de choisir les termes (génériques, spécifiques) adaptés à chaque situation.

On peut encore définir le bruit et le silence par :

Soit une question Q ou système documentaire qui a N documents

		Système	
		S	\bar{S}
Utilisateur	P	a	b
	\bar{P}	c	d

- P : documents pertinents
- \bar{P} : documents non pertinents
- S : documents signalés
- \bar{S} : documents non signalés

$$\text{bruit} : \frac{c}{a + c}$$

$$\text{silence} : \frac{b}{a + b}$$

$$\text{précision} : \frac{a}{a + c}$$

$$\text{rappel} : \frac{a}{a + b}$$

INTERROGATION DE LA BASE EUCAS 82 :

<u>Etape 1</u>	<u>Résultats :</u>
? bactéri ??	13 376 références
<u>Etape 2</u>	
? biogas	710 références
<u>Etape 3</u>	
? fermentation	6 297 références
<u>Etape 4</u>	
? anaérobic	2 074 références
<u>Etape 5</u>	
? 3 et 4	185 références
<u>Etape 6</u>	
? 5 ou 2	835 références
<u>Etape 7</u>	
? 1 et 6	33 références
<u>Etape 8</u>	
? Waste ?	19 850 références
<u>Etape 9</u>	
? 7 et 8	7 références
<u>Etape 10</u>	
? Antibiotic ?	7 354 références
<u>Etape 11</u>	
? 8 et 10	20 références
<u>Etape 12</u>	
? Mixed et culture	145 références
<u>Etape 13</u>	
? 11 et 12	7 références
<u>Etape 14</u>	
? 13 ou 11	27 références (commandées en édition différée)
<u>Etape 15</u>	
? 10 et 1 et 5	0 référence.

L'utilisation d'une troncature permet de substituer à certains caractères d'un terme d'interrogation un ou plusieurs signes susceptibles de pendre une valeur quelconque.

Bactéri ?? peut donner bactérium, bactéria

C'est une troncature limitée

27 références ont été commandées en édition différée, c'est à dire impression des références réalisée par le serveur après l'interrogation par opposition à l'impression en ligne (impression au moment même de l'interrogation), ce qui est beaucoup plus cher car pendant la connexion, au tarif serveur il faut rajouter le coût de transpac (réseau) qui dépend du nombre de caractères. Aussi lors de l'interrogation, seul quelques références ont été visualisées.

Sur les 27 références commandées :

13 étaient pertinentes dont 8 en Anglais ^{30%} 50%

3 en Japonais

2 en Russe

donc 8 références ont été commandées (anglais).

Des interrogations similaires avec les bases PASCAL et BIOSIS permettent d'obtenir une vingtaine de références pertinentes toutes très récentes.

L'ensemble des 3 bases permet de diminuer le silence malgré les recoupements de références. Mais il y a malgré tout beaucoup de bruits car le sujet est très étroit (notamment beaucoup de techniques de production d'antibiotiques, de références sur les matériels (digesteurs)).

Exemple de références
obtenues avec la base Pascal

PT : BRISTOL-MYERS COMPANY
DT : TB;LM
SO : ; EUR; DA. 1983-08-03; EP/A2/0 084 826; DEP.83100307-4/1983-01-14;
US/339355/1982-01-15; 27 P.; LOC. INPI

**Résumé
français**

LA : ENG
FA : UN NOUVEAU PEPTIDE HYDROSOLUBLE APPELE BU-2517 EST PRODUIT PAR
FERMENTATION PAR LA SOUCHE G393-B445 (ATCC 31962) D'EMPEDOBACTER SP
S'AGIT D'UN DEPSIPEPTIDE CYCLIQUE QUI INHIBE LA CROISSANCE DE DIVER
BACTERIES GRAM POSITIF AEROBIES ET ANAEROBIES

**Résumé
anglais**

EA : A NOVEL WATER-SOLUBLE PEPTIDE DESIGNATED HEREIN AS BU-2517 IS PRODU
BY FERMENTATION OF EMPEDOBACTER SP. STRAIN G393-B445 (ATCC 31962).
ANTIBIOTIC EXISTS IN A CYCLIC DEPSIPEPTIDE STRUCTURE AND CONTAINS TI
AMINO ACIDS D-SERINE, D-PROLINE, L-PROLINE, D-THREO-BETA
-HYDROXYASPARTIC ACID, L-THREO-BETA -HYDROXYASPARTIC ACID, L-ARGINI
AND TRANS-L-3-HYDROXYPROLINE AND THE RESIDUE OF THE C:::(14) FATTY AC
3-HYDROXYTETRADECANOIC ACID. THE BU-2517 ANTIBIOTIC INHIBITS THE GRI

CONTINUER L'EDITION (O/N) ?

?o

**Descripteurs
français**

CC : OF A VARIETY OF AEROBIC AND ANAEROBIC GRAM-POSITIVE BACTERIA
215.D.01.C

**Descripteurs
anglais**

FD : BACTERIE; PRODUCTION; FERMENTATION; ANTIBIOTIQUE; PEPTIDE; ACTIVITE
BIOLOGIQUE; ANTIBACTERIEN; BREVET; BACTERIE GRAM POSITIF; AEROBIE;
ANAEROBIE; EMPEDOBACTER; DEPTIPEPTIDE CYCLIQUE
ED : BACTERIA; PRODUCTION; FERMENTATION; ANTIBIOTIC; PEPTIDE; BIOLOGICAL
ACTIVITY; ANTIBACTERIAL AGENT; PATENTS; GRAM-POSITIVE BACTERIA;
AEROBIE; ANAEROBIE

N° identifi

-2- 713238 C.PASCAL
NO : 78-5-0252610

Titre français

FT : (EFFETS DES COMPOSES CONTENANT DES METAUX LOURDS, DES SELS MINERAUX,
DES HYDROCARBURES ET DES ANTIBIOTIQUES SUR LA FERMENTATION DU METHAN

Autre titre

OT : EN JAPONAIS.

Auteur

AU : SONODA Y.; SEIKO Y.

Affiliation

AF : FERMENT. RES. INST., INAGE, CHIBA

Type documents

DT : TP;LA

Source

SD : HAKKOKOGAKU; JAP.; DA. 1977; VOL. 55; NO 1; PP. 22-29; ABS. ANGL.;
BIBL. 6 REF.; LOC. CNRS-8234B

Langue

LA : JAP

CONTINUER L'EDITION (O/N) ?

?o

FA : ETUDE SUR UNE DIGESTION ANAEROBIE THERMOPHILE (54**(O)C)
CC : 340.A.04.H
FD : METAL LOURD; SEL MINERAL; HYDROCARBURE; ANTIBIOTIQUE; FERMENTATION;
PRODUCTION; DIGESTION ANAEROBIE; THERMOPHILIE; TOXICITE; METHANE;
ACTION SUR

-3- 419054 C.PASCAL

NO : 77-5-0419719

ET : THE STRIATINS. NEW ANTIBIOTICS FROM THE BASIDIOMYCETE CYATHUS STRIAT
(HUDS. EX PERS.) WILLD.

AU : ANKE T.; OBERWINKLER F.; STEGLICH W.; HOFLE G.

AF : LEHRBEREICH SPEZ. BOT. UNIV., 74 TUBINGEN, B.D.R.

DT : TP;LA;DU

SD : J. ANTIBIOT.; JAP.; DA. 1977; VOL. 30; NO 3; PP. 221-225; BIBL. 4 RE
LOC. CNRS-2356A

LA : ENG

FA : ISOLEMENT, PROPRIETES BIOLOGIQUES ET PHYSICOCHIMIQUES.

CC : 330.A.01.C.02

FD : ANTIBIOTIQUE; BASIDIOMYCETE; ACTIVITE BIOLOGIQUE; PROPRIETE
PHYSICOCHIMIQUE; CHAMPIGNON; SYNTHÈSE ACIDE NUCLEIQUE

d) Documents primaires :

Ce sont les actes de congrès, articles de périodiques brevets, rapports, thèses, ouvrages.

Le problème de l'accès aux documents primaires après la recherche en ligne se pose. En effet, par exemple, le délai de réception du document par le prêt-interuniversitaire peut être long.

Certains grands serveurs proposent des services de photocopies des originaux, des articles sélectionnés au cours d'interrogation (possible aussi à partir du terminal d'interrogation).

Tous les périodiques sont répertoriés dans un catalogue collectif national consultable en ligne et d'autre part il a été mis en place des C.A.D.I.S.T (centres d'acquisition et de diffusion de l'information scientifiques et techniques).

Le coût est aussi élevé (10 pages = 20 F au CNRS)

Le recours au tiré à part est aussi un handicap car là aussi le temps de réception est long.

Un espoir pour réduire les délais des documents primaires existera peut être avec le développement de la Télécopie qui permet l'acquisition des documents très rapidement (une expérience menée par le CNRS et EDF permettait d'obtenir l'ensemble des documents en 24 h), mais le coût était encore trop élevé par rapport aux nombres de documents.

Il faut savoir qu'actuellement, il existe des télécopieurs permettant l'obtention de documents en moins d'une minute avec un coût moins élevé que le télex ou le téléphone.

Alors avec de grandes quantités de documents commandés, l'opération peut être rentable.

e) Conclusion

56 % des banques sont américaines

26 % sont européennes

A la différence d'une recherche documentaire manuelle, le coût est apparent et facturé à l'utilisateur (rapidité et pertinence des informations)

- coût :

- redevance du serveur, du temps d'utilisation de son ordinateur,
- paiement de l'utilisation du réseau (indépendamment de la distance mais au volume de transmissions (augmentation du coût sur le réseau européen et américain)),
- paiement des références imprimées.

Une bonne interrogation dépend :

- 1) du choix des publications, qualité de l'indexation pour le producteur,
- 2) capacité et performance de l'ordinateur, qualité du logiciel, sérieux de maintenance pour le serveur,
- 3) fiabilité de la transmission des informations, simplification des procédures d'accès pour le réseau,
- 4) connaissances dans le domaine interrogé, connaissance de la banque, et familiarisation avec le langage d'interrogation.

LES INHIBITEURS DE LA METHANISATION

1 - INTRODUCTION

2 - LA METHANOGENESE

3 - BACTERIES METHANOGENES

4 - ACTION DES INHIBITEURS SUR LA PRODUCTION DE METHANE

a) Substances chimiques

b) Antibiotiques

. le monensine

. les autres antibiotiques

5 - MECANISME D'ACTION, IDENTIFICATION, CINETIQUES DES INHIBITEURS

6 - ACTION DES INHIBITEURS SUR LES BACTERIES METHANOGENES

7 - CONCLUSIONS

1 - INTRODUCTION

Les biotechnologies prennent de plus en plus d'intérêt avec l'utilisation des microorganismes les plus divers. Les technologies de conversion biologique des biomasses en (acides organiques, solvants, biocarburant gazeux, enzymes, vitamines, etc...) ont sensibilisé le monde scientifique et économique notamment avec la diminution du potentiel en énergie fossile. Actuellement, l'un des domaines les plus étudié porte sur les bactéries anaérobies, en particulier pour la production de biogaz à partir de déchets ou sous-produits agricoles, agro-alimentaires ou industriels. Parmi ces substrats à fermenter, les lisiers tiennent une place importante. On y retrouve les additifs divers présents initialement dans l'alimentation du bétail pour prévenir les infections ou améliorer la production. Ces produits sont souvent des antibiotiques aux mécanismes d'actions variés qui vont jouer un rôle plus ou moins important sur les microflores mises en jeu lors de la fermentation des lisiers qui les contiennent.

.../...

2 - LA METHANOGENESE

La biosynthèse du méthane à partir de la dégradation des déchets (ordures ménagères, lisiers, effluents agro-alimentaires,...) se décompose schématiquement en 4 étapes biochimiques principales : hydrolyse, acidogénèse, acétogénèse, méthanogénèse (MAH et al, 1977).

Si le propionate et le butyrate sont 2 intermédiaires importants (BOONE et al, 1984), les 3 précurseurs principaux sont l'acétate, le CO_2 et l' H_2 (ces deux derniers étant à l'origine d'un méthane de réduction



L'acétate représente le précurseur essentiel de la méthanogénèse puisque les expériences menées par (BHADRA et al, 1984) montrent que le CH_4 produit provient de 72 % d'acide acétique et 28 % par le CO_2 . La réduction du dioxyde de carbone en méthane nécessite 4 équivalents hydrogène qui proviennent de l'eau et non pas de l'hydrogène gazeux (SPENCER et al, 1980). Chez les bactéries méthanogènes, il y a participation de vésicules membranaires qui associent la synthèse du méthane et l'ATP. Ces vésicules permettent la réduction du CO_2 en CH_4 (SAUER et al, 1981), mais le rôle de l'ATP dans cette réduction est mal connu. Des enzymes comme le méthylènetétrahydrofolate, le méthylcobalamine-coenzyme M méthyltransférase et le méthyl-coenzyme M réductase (SAUER et al, 1980) interviennent dans le processus qui est conditionné par des facteurs comme le pH (SAUER et al, 1981), le potentiel électrique (SAUER et al, 1979).

.../...

3 - BACTERIES METHANOGENES

Ces bactéries anaérobies strictes, encore mal connues et aux caractéristiques très particulières, appartiennent à des groupes divers (BALCH et al, 1979). Ces bactéries sont mésophiles ou thermophiles. Ces dernières ont un potentiel industriel supérieur compte-tenu d'une vitesse de production supérieure mais les paramètres de conduite de fermentation sont beaucoup plus délicats. Parmi ces bactéries, citons : *Méthanobactérium thermoautotrophicum* et *Méthanosarcina*, souche TM-1 (VAREL, 1983). D'après (BALCH et al, 1979) on peut ainsi les définir :

Ordre I : Méthanobactériales

Famille I : Méthanobactériaceae

- genre I : *Méthanobacterium formicicum*
Methanobacterium bryantii
Methanobacterium thermoautotrophicum
- genre II : *Methanobrevibacter arboriphilus*
Methanobrevibacter ruminantium
Methanobrevibacter smithii

Ordre II : Méthanococcales

Famille I : Méthanococcaceae

- genre I : *Methanococcus vannieli*
Methanococcus voltae

Ordre III : Méthanomicrobiales

Famille I : Methanomicrobiaceae

- genre I : *Methanomicrobium mobile*
- genre II : *Methanogenium cariaci*
Methanogenium marisnigri
- genre III : *Methanospirillum hungatei*

Famille II : Méthanosarcinaceae

- genre I : *Methanosarcina barkeri*

4 - ACTION DES INHIBITEURS SUR LA PRODUCTION DE METHANE

L'addition de substances chimiques dans l'alimentation pour prévenir les infections ou augmenter la production est très fréquente. On retrouve tout ou partie de ces produits dans les lisiers destinés à être fermentés et il est important de connaître leur action sur les microflores impliquées dans la méthanogénèse. De plus, il ne faut pas oublier les désinfectants divers utilisés pour le nettoyage que l'on retrouvera aussi dans les lisiers.

a) Substances chimiques

Des expériences de laboratoire concernant les lisiers de porcs en digestion anaérobie ont été conduites en fermenteur de 1,5 l avec un temps de rétention de 20 jours en présence de divers désinfectants (cf. tableau) :

Dose 1 : dose utilisée en pratique pour laver les porcheries

Dose 2 : dose 1 + 10

Agent antimicrobien nom commercial	Caractéristiques chimiques	Concentrations utilisées ml/l
Tego 51	Dodecyldi(aminoéthyl)glycin	dose 1 : 0,17 dose 2 : 1,7
Dettol	Para-chlorometaxylénol, terpinol, iso-propanol	dose 1 : 0,83 dose 2 : 8,3
NaOCl	Chlorine	dose 1 : 1,7 dose 2 : 16,7
Creolin	Huile de créosote, phenols	dose 1 : 0,17 dose 2 : 1,7

Ces 4 désinfectants n'ont aucun effet s'ils sont appliqués à une dose normalement préconisée sur le taux de méthane obtenu. Seuls le Creolin et le Dettol présentent une inhibition de 50 et 100 % sur la production de biogaz avec la dose 2.

.../...

En plus, on trouve une accumulation des précurseurs du méthane (acide acétique, propionique, etc...), ceci au bout de 6 jours (POELS et al, 1984). En fait, la propriété des désinfectants est de détruire les structures membranaires des bactéries. Des expériences menées avec l'Indicin3 et l'Orbivet contenant des aldéhydes et alcools, le Master Mix environ contenant des phénols, le Thégodor 73 contenant des aldéhydes et ammoniums quaternaires et le Dékaseptol (phénols et chloroformes) n'ont donné aucun résultat sur la formation du méthane sauf le Dékaseptol qui agit même à basses concentrations. A de hautes concentrations, les autres désinfectants sont aussi inhibiteurs (HILPERT et al, 1984).

L'utilisation de bromide triphenylmethylphosphonium (TPMP) sur *Methanobacterium bryantii* montre une inhibition de synthèse de CH_4 à partir de 100 - 1000 micromoles. Le cyanure de carbonyle m chloro-phenylhydrazone (CCCP) ainsi que le KCl 0,5 M ont des effets sur la méthanogénèse en absence de cystéine avec une réduction par H_2S et en tampon acide (JARRELL et al, 1983). L'inhibition peut être levée par addition de 1 m M de cystéine. En fait le CCCP agit sur la perméabilité membranaire cytoplasmique (SAUER et al, 1981).

Le N, N' decyclohexylcarbodiimide (DCCD), inhibiteur de l'adénosine-triphosphatase, agit sur l'activité méthanogène des souches GP1 et JF1 de *Methanospirillum hungatei* (SPROTT, 1982). Ces substances chimiques sont utilisées périodiquement en élevage pour désinfecter les locaux et prévenir. Sur de courtes périodes, la charge en inhibiteurs peut être élevée dans le liquide qui se mêlera au lisier et sera éventuellement à l'origine d'incident ou d'accident de fermentation.

4 substances sont généralement utilisées en batch :

- Sulfaméthazine : effet nul
- Furazolidone : inhibition à partir de 200 mg/l (dose non habituelle)
- Acide arsanic : peu d'effet sauf à haute concentration
- Olaquinox : inhibiteur

.../...

Le sulfaméthazine et l'acide arsanilique sont des analogues structuraux de l'acide para-aminobenzoïque (p. ABA) et interfèrent avec le métabolisme de l'acide folique (métabolite des acides nucléiques). Le furazolidone et l'olaquinox sont des composés mutagènes (action sur le DNA). L'effet de l'olaquinox sur la fermentation du méthane est dû à des modifications des conditions de réduction pendant la fermentation.

En fait, leur action n'est pas due à leurs différents mécanismes d'action mais plutôt à leurs différentes stabilités sur les microorganismes (HILPERT, 1984). Le 2,4 dinitrophenol (DNP) découplant des phosphorylations oxydatives, inhibe complètement la croissance (ATP) et la méthanogénèse chez *Methanobacterium thermoautotrophicum* en agissant sur la force ionique au niveau des membranes intracellulaires (SMIGAN et al, 1984). Le chloroforme (CHCl_3) et DNP sont des inhibiteurs de la synthèse de CH_4 et d'ATP en dissipant le gradient électrochimique au niveau des vésicules membranaires (SAUER et al, 1981). L'acide bromoethanesulfonique (BESA), inhibiteur compétitif de l'acide mercaptoethanesulfonique = coenzyme M, produit une augmentation du pool d'acétate (WILDENAUER et al, 1984). Ceci a été montré en culture pure car le BESA n'est pas utilisé comme substances chimiques à action thérapeutique.

b) Antibiotiques

. Le monensine (nom commercial : rumensine)

Parmi tous les antibiotiques, le monensine est largement utilisé pour améliorer la croissance animale et minimiser les infections bactériennes. Chez les ruminants, 200 à 300 mg de ce produit par tête de bétail et par jour sont utilisés avec une inactivation de 50 à 60 % dans le rumen et le tractus digestif (HERBERG et al, 1978). Plus de 80 % des taurillons sont nourris avec un apport en monensine, mais l'utilisation est interdite pour les vaches laitières. Il est aussi utilisé dans l'industrie de la volaille pour augmenter les rendements de production. Les études sur ce composé sont souvent associées à celles d'un autre antibiotique : le lasalocide qui est aussi un ionophore. Le monensine inhibe la production de méthane même à très basses concentrations.

En fermentation en semi-continu, une simple addition de 1 mg/l diminue la production de gaz de plus de 50 % le premier jour. Après une addition de 10 à 50 mg/l, la production de gaz est stoppée, le pH diminue rapidement et la concentration en acide organique comme l'acétate augmente ; simultanément le nombre de bactéries méthanogènes diminue. S'il est administré continuellement à 1 mg/l avec les autres substrats, on a seulement une inhibition de 20 % du gaz obtenu les premiers jours. Et cette inhibition diminue graduellement et après 40 jours, la production de gaz est proche de celle d'un témoin de contrôle (HILPERT et al, 1984). Les bactéries prédominantes sensibles au monensine sont des bâtonnets gram négative. En fermentation continue, avec des grains (t° : 39,5° C, pH : 6,7 et 7,5) on observe une diminution d'acide butyrique, isovalérique et une stimulation de production de propionate, mais aucun effet sur les acides acétiques et valériques (FULLER et al, 1981 ; WILDENAUER et al, 1984). (VAREL, 1983) montre que la production de méthane à 55°C dans un digesteur initialement stabilisé avec des lisiers ne contenant pas d'antibiotiques et qui reçoit des lisiers de bétails alimentés avec le monensine, alors la production de méthane est inhibée. Le volume de gaz commence à décroître au bout de quelques jours après l'addition de l'antibiotique. Au bout de 12 jours, il n'y a plus de méthane produit. Dans le même temps, la concentration en acide gras augmente et le pH diminue (3 jours). Par exemple, l'acétate et le propionate augmentent immédiatement et après 7 jours le butyrate. La diminution de production du méthane atteint 35 %. La première inhibition serait une inhibition de la production de méthane par augmentation des précurseurs H_2 et formate.

Pour conclure, la période d'adaptation des bactéries méthanogènes est de 6 mois pour le monensine, alors le taux de méthane produit est similaire à celui de déchets ne contenant pas d'antibiotiques, et dans le même temps, la concentration en acide organique est doublée, le niveau d'azote diminue ainsi que le pH (VAREL et al, 1982). En fait, le monensine est métabolisé par différents composés chez les bovins et rats et n'est pas dégradé de façon sélective par les bactéries intestinales mais résulte d'une absorption et du métabolisme des différents tissus (DONOHO et al, 1978). La production de méthane est totalement inhibée à 35 comme à 55 degrés avec des fermenteurs conventionnels. Mais au bout de 40 à 50 jours, le monensine est inactivé, ceci s'explique soit par dégradation soit par résistances des bactéries.

. les autres antibiotiques

Agent antimicrobien	Caractéristiques	Concentration d'utilisation mg/l
<i>Chlortetracycline</i>	<i>tétracycline</i>	<i>dose 1 : 3,3</i> <i>dose 2 : 16,7</i> <i>dose 3 : 33,3</i>
<i>Tylosine</i>	<i>macrolide</i>	<i>dose 1 : 1,7</i> <i>dose 2 : 8,3</i> <i>dose 3 : 16,7</i>
<i>Chloramphenicol</i>	<i>p-nitrophényl</i> <i>dichloroacétylamine</i> <i>propanédiol</i>	<i>dose 1 : 16,7</i> <i>dose 2 : 83,3</i> <i>dose 3 : 166,6</i>
<i>Erythromycine</i>	<i>macrolide</i>	<i>dose 1 : 0,4</i> <i>dose 2 : 2,0</i> <i>dose 3 : 4,0</i>
<i>Bacitracine</i>	<i>nature polypeptidique</i>	<i>dose 1 : 3,3</i> <i>dose 2 : 16,7</i> <i>dose 3 : 33,3</i>
<i>Virginiamycine</i>	<i>nature peptolidique</i>	<i>dose 1 : 1,7</i> <i>dose 2 : 8,3</i> <i>dose 3 : 16,7</i>

Le chlortetracycline, la tylosine (tylan), l'érythromycine et le chloramphenicol n'ont pas d'effets sur la digestion anaérobie (volume : 500 ml temps de rétention : 20 jours). Mais l'application de la dose 3 de la bacitracine et de la virginiamycine (Stafax) provoque une grande diminution de la production de biogaz : après 2 jours, 19 % et 49 % de décroissance sont enregistrés, et après 4 jours, 86 % et 87 %. La diminution est corrélative à une augmentation en acide gras volatile (POELS et al, 1984). Des études sur des boues (lisiers) montrent que la bacitracine est inhibitrice à 3 mg/l.

Dans cette même étude, la flavomycine ou Flavophospholipol n'a aucun effet sur la fermentation méthanique ; en fait, il est connu que cet agent n'agit que sur les gram positives et on n'en retrouve peu dans les boues ou lisiers. Le lasalocide (Avatec) est actif seulement à hautes concentrations (100 mg/l) sur la fermentation méthanique (non utilisée en pratique à cette dose). Après une simple addition de 3 ou 10 mg/l en fermenteur semi-continu, la production de gaz augmente de 20 % le premier jour et retourne ensuite à la normale ; les taux des autres composés (acides organiques, volatiles, pH...) ne changent pas. Une addition en continue de 50 mg/l de lasalocide avec les autres substrats augmente la production de gaz de 20 % les deux premiers jours puis revient au niveau du contrôle avec aucun effet sur la cinétique des acides acétique et propionique. Les raisons de cette augmentation de gaz par le lasalocide ne sont pas connues.

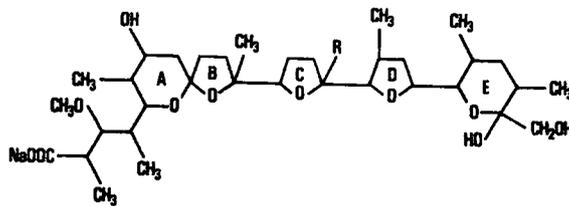
La spiramycine (Spiramix) et la virginiamycine (action sur la sous-unité 50 S du ribosome bactérien) inhibe la synthèse du méthane même à basses concentrations (HILPERT et al, 1984). En culture mixte, en fermentation anaérobie en digesteur de 3 l à 35° et 55°C, le chloramphenicol diminue la production de méthane de 20 % environ, mais en pratique cette inhibition serait moindre car il est utilisé préventivement (VAREL et al, 1981).

La salinomycine, ionophore qui active la cellule microbienne membranaire en changeant la perméabilité des cations comme le sodium et le potassium, augmente le taux des acides organiques corrélativement à une diminution de CH₄. L'avoparcine (glucopeptide), bien que différent en structure des autres ionophores a des effets similaires (VAREL, 1983, 1981).

.../...

5 - MECANISME D'ACTION, IDENTIFICATION, CINETIQUES DES INHIBITEURS

Le monensine, narasine, salinomycine et lasalocide sont des polyether, acides monocarboxyliques, ionophores. Ces composés ont la propriété structurale de transporter les cations à travers les membranes biologiques. Le monensine est extrait de streptomycetes cinnamomensis et est représenté comme une chaîne tétrahydropyranique et tétrahydrofuranique terminée par un ou deux groupes hydroxyles à une extrémité et par une fonction carboxylique à l'autre.



Monensine sodium ($R = C_2H_5$)
facteur B ($R = CH_3$)

(HERBERG et al, 1978)

La structure est stabilisée par des liaisons hydrogènes. Ces ionophores carboxyliques induisent un flux de potassium à travers la membrane cellulaire et dans le même temps, modifient le pH interne. Mais le monensine montre une grande sélectivité vers l'ion sodium et n'affecte pas les propriétés électriques de la bicouche lipidique membranaire, contrairement par exemple à la grisorixine et à la nigéricine (SANDEAUX et al, 1982). Ces antibiotiques ionophores sont utilisés en prophylaxie animale comme agent antibactérien. Comment reconnaître et distinguer chacun par un test qualitatif ? L'identification de ces composés est basée pour chacun, sur leur réaction d'acidification avec la vanilline pour présenter des colorations à la révélation (autobiographie) avec Bacillus subtilis ATCC 6633 comme organisme détecteur. A la révélation, les deux facteurs A et B du monensine sont distingués par une couleur rose, le narasine et la salinomycine violet, le lasalocide jaune pâle.

.../...

Cette détection est facilitée par des Rf différents :

Monensine : 0,38

Narasin : 0,6

Salinomycine : 0,51

Lasalocide : 0,71

D'autres antibiotiques ont été testés comme la tylosine, bacitracine, avoparcine, flavomycine, par cette méthode mais leurs Rf sont nuls (OWLES et al, 1984). D'autre part, le monensine qui est un transporteur, existe sous 3 formes : anionique, protonée et complexée avec le cation. Ces 3 formes sont localisées sur les deux interfaces entre la membrane et la solution. Le transport de sodium d'une face à l'autre se fait de façon régulière entre le sodium et la forme protonée (SANDEAUX et al, 1982). Comment agit ce composé qui est le plus utilisé aux Etats-Unis dans la nourriture du bétail. Bien que la production de méthane soit totalement inhibée, les bactéries méthanogènes ne sont pas la première cible d'action du monensine dont la première action inhibitrice est d'agir sur les microflores productives des précurseurs du méthane, comme l'hydrogène et le formate, ceci est valable pour les déchets de type eaux d'égoûts (VAREL, 1983). En culture pure, l'augmentation de l'acétate et la diminution du nombre de bactéries sont le résultat de l'action du monensine dont un mode d'action passerait par un taux élevé de sodium (VAREL et al, 1982). (HASHIMOTO et al, 1981) propose 3 mécanismes pour expliquer l'adaptation de la microflore au monensine au bout de 6 mois : développement d'une résistance par des espèces mutantes de bactéries, changement du type de bactéries, désactivation de l'agent antimicrobien. Il retient les deux premières hypothèses.

La flavomycine a peu d'action sur la méthanogénèse car elle agit principalement sur les Gram positives (il existe bien sûr des méthanogènes Gram négatives). La bacitracine réalise une réaction de déphosphorylation et inhibe la biosynthèse du lipide isoprénolide indispensable à la synthèse du peptidoglycane bactérien (mais il n'y a pas de peptidoglycane chez les méthanogènes. La tylosine, virginiamycine, spiramycine agissent sur la synthèse protéique (action sur la sous-unité 50 S du ribosome bactérien) (HILPERT et al, 1984). Enfin, pour déterminer la cinétique d'inhibition de fermentation du méthane avec du lisier de porc, (HILL et al, 1983) avec un réacteur en flux continu ont utilisé la conventionnelle description mathématique microbienne de croissance cinétique sous conditions d'inhibition. Mais ils ont eu beaucoup de problèmes de description du substrat organique.

.../...

6 - ACTION DES INHIBITEURS SUR LES BACTERIES METHANOGENES

Les bactéries méthanogènes sont placées dans un groupe particulier, celui des Archaeobacteriaceae. Elles diffèrent des eubactéries notamment dans la mesure où elles ont une membrane cytoplasmique unique et cela se traduit par une relative imperméabilité au glucose. Ainsi, *Methanospirillum hungatei* a une membrane lipidique caractéristique (diether et tétraether) que l'on retrouve chez beaucoup de méthanogènes. Cette caractéristique de perméabilité rend difficile la prédiction des agents biochimiques capables de pénétration dans les sites d'action.

Parmi ceux-ci, le N,N' dicyclohexylcarbodiimide (DCCD) qui réagit avec une protéine spécifique du complexe ATPasique (translocation de proton lors des activités de phosphorylation). Le DCCD n'agit en fait que sur les souches GP1 et JF1 de *Methanospirillum hungatei* en induisant un ralentissement de leur croissance, de leurs activités de synthèse du méthane et d'une diminution des concentrations d'ATP intracellulaire (SPROTT et al, 1982).

Le 2,4 dinitrophenol (DNP) découplant des phosphorylations oxydatives inhibe complètement la croissance et la méthanogénèse chez *Methanobacterium thermoautotrophicum*. La gramicidine D donne les mêmes résultats. Ces inhibiteurs dissipent la force électro-chimique au niveau des membranes intracellulaires. Cette force est fondamentale chez ce type de bactéries (SMIGAN et al, 1984).

L'activité méthanogène de *Methanobacterium bryantii* inhibée par l'acétylène, la gramicidine, la nigéricine, le bromide de triphenylmethylphosphonium (TPMP⁺). Le mode d'action de l'acétylène est encore inconnu alors que tous les autres composés sont bien connus pour leurs actions inhibitrices sur la croissance, la synthèse du méthane et d'ATP (JARRELL et al, 1983). Longtemps, on a cru la synthèse du méthane couplée à l'action de l'ATP sur la réduction du CO₂ (SAUER et al, 1979). L'action d'inhibiteur de type CCCP (carbonylcyanide m chlorophenylhydrazone), de DNP et CHCl₃ (chloroforme) sur *Methanobacterium thermoautotrophicum* indique la présence de 2 types biochimiques de membranes. On a formation de vésicules contenant les fonctions métaboliques de type mitochondriale (il n'y a pas de mitochondries chez les bactéries) (SAUER et al, 1981).

.../...

8 - CONCLUSIONS

Il est évident que l'on ne peut être exhaustif sur tous les composés utilisés ces dernières années dans l'industrie alimentaire que l'on retrouve par la suite dans les déchets. Ainsi, l'action des métaux lourds, de Ni, S₂, NH₄⁺, formaldéhyde (PARKIN et al, 1983) n'est pas étudiée. Le nombre de brevets déposés portant sur les techniques de digesteur, d'amélioration de la fermentation, procédé et installation de production de biogaz (Institut national de la propriété industrielle), montre l'intérêt que le monde scientifique porte à ces techniques de production de gaz à moindre coût.

Cette technologie permet d'une part une dépollution et d'autre part un apport énergétique non négligeable à l'échelle artisanale (lisiers bovins, porcs, volailles,...) et industrielle (déchets urbains, eaux d'égoûts, déchets agro-alimentaires). Actuellement, ce qui ralentit le développement de cette technique n'est pas les performances mais les coûts (principal frein). En effet, il faut maîtriser des processus tels que anaérobiose, température constante, gaz composite, stockage, digesteur, conversion en énergie utile. A ceci, il faut rajouter donc tous les effets des inhibiteurs qui minimisent les économies d'énergie réalisées par la méthanisation mais qui ne sont pas des facteurs insurmontables.

B I B L I O G R A P H I E

BALCH, W.E, G.E. FOX, L.J. MAGRUM, C.R. WOESE, R.S. WOLFE (1979)

Méthanogens : Reevaluation of a Unique Biological Group.

Microbiological Reviews, Vol. 43, n° 2, pp. 260-296

BHADRA, A., S. MUKHOPADHYAY, T.K. GHOSE (1984)

A Kinetic Model for Methanogenesis of Acetic Acid in a Multireactor System.

Biotechnology and Bioengineering, Vol. 26, n° 3, pp. 257-264

BOONE, R. DAVID (1984)

Mixed-Culture Fermentor for Simulating Methanogenic Digestors.

Applied and Environmental Microbiology, Vol. 48, n° 1, pp. 122-126

DONOHO, A, J. MANTHEY, J. OCCOLOWITZ, L. ZORNES (1978)

Metabolism of Monensin in the Steer and Rat.

Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 26, n° 5, pp. 1090-1095

FULLER, J.R, D.E. JOHNSON (1981)

Monensin and Lasalocid effects on Fermentation in Vitro.

Journal of Animal Sciences, Vol. 53, n° 6, pp. 1574-1580

HASHIMOTO, A.G, V.H. VAREL, Y.R. CHEN (1981)

Ultimate Methane Yield from Beef Cattle Manure : Effect of Temperature, Ration Constituents, Antibiotics and Manure Age.

Agricultural Wastes, Vol. 3, pp. 241-256

HASHIMOTO, G. ANDREW (1982)

Effect of Mixing Duration and Vacuum on Methane Production Rate from Beef Cattle Waste.

Biotechnology and Bioengineering, Vol. 24, pp. 9-23

.../...

HERBERG, R., J. MANTHEY, L. RICHARDSON, C. COOLEY, A. DONOHO (1978)
Excretion and Tissue Distribution of Monensin in Cattle.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 26, n^o.5, pp. 1087-1089

HILL, D.T, E.W. TOLLNER, R.D. HOLNBERG (1983)
The Kinetics of Inhibition in Methane Fermentation of Swine Manure.
Agricultural Wastes, Vol. 5, pp. 105-123

HILPERT, R, J. WINTER, O. KANDLER (1984)
Agricultural Feed Additives and Disinfectants as Inhibitory Factors in Anaerobic Digestion.
Agricultural Wastes, Vol. 10, pp. 103-116

JARRELL, K.F, G.D.SPROTT (1983)
The Effects of Ionophores and Metabolic Inhibitors on Methanogenesis and Energy-Related Properties of Methanobacterium bryantii.
Archives of Biochemistru and Biophysics, Vol. 225, n^o.1, pp. 33-41

MAH, R.A, D.M.WARD, L. BARESI, T.L.GLASS (1977)
Biogenesis of Methane.
Annual Reviews Microbiology, Vol. 31, pp. 309-341

OWLES, J. PENNY (1984)
Identification of Monensin, Narasin, Salinomycin and Lasalocid in Pre-mixes and Feeds by Thin-Layer Chromatography.
Analyst, Vol. 109, pp. 1331-1333

PARKIN, G.F, P.E.SPEECE, C.H.J. YANG, W.M.KOCHER (1983)
Response of Methane Fermentation Systems to Industrial Toxicants.
Journal Water Pollution Control Fed 55, Vol. 1, pp. 44-53

.../...

- POELS, J., P. VAN AASCHE, W. VERSTRAETE (1984)
Effects of Disinfectants and Antibiotics on the Anaerobic Digestion of Piggery Waste.
Agricultural Wastes, Vol. 9, pp. 239-247
- SANDEAUX, R., J. SANDEAUX, C. GAVACH, B. BRUN (1982)
Transport of Na⁺ by Monensin across Bimolecular Lipid Membranes.
Biochimica and Biophysica Acta, Vol. 684, pp. 127-132
- SAUER, D.F., J.D. ERFLE, S. MAHADEVAN (1981)
Evidence for an Internal Electrochemical Proton Gradient in Methanobacterium thermoautotrophicum.
Journal of Biological Chemistry, Vol. 256, n^o.19, pp. 9843-9848
- SAUER, D.F., J.D. ERFLE, S. MAHADEVAN (1980)
Methane production by the Membranous Fraction of Methanobacterium thermoautotrophicum.
Biochemistry Journal, Vol. 190, pp. 177-182
- SAUER, D.F., J.D. ERFLE, S. MAHADEVAN (1979)
Methane Synthesis without the addition of Adenosine Triphosphate by Cell Membranes Isolated from Methanobacterium ruminantium.
Biochemistry Journal, Vol. 178, pp. 165-172
- SMIGAN, P., A. FRIEDERONA, P. RUSNAK, M. GREKSAR (1984)
Effect of 2,4 Dinitrophenol and Ionophores on Growth and Methanogenesis in Methanobacterium thermoautotrophicum.
Folia Microbiology, Vol. 29, pp. 353-358
- SPENCER, W.R., L. DANIELS, G. FULTON, W.H. ORME-JOHNSON (1980)
Product Isotope Effects on in Vivo Methanogenesis by Methanobacterium thermoautotrophicum.
Biochemistry Journal, Vol. 19, pp. 3678-3683

.../...

SPROTT, G.D., K.F. JARRELL (1982)

Sensitivity of Methanogenic Bacteria to Dicyclohexylcarbodiimide.

Canada Journal Microbiology, Vol. 28, pp. 982-986

VAREL, V.H., A.G. HASHIMOTO (1981)

Effect of Dietary Monensin or Chlortetraacycline on Methane Production from Cattle Waste.

Applied and Environmental Microbiology, Vol. 41, n°.1, pp. 29-34

VAREL, V.H., A.G. HASHIMOTO (1982)

Methane Production by Fermentor Cultures Acclimated to Waste from Cattle Feed Monensin, Lasalocid, Salinomycin, or Avoparcin.

Applied and Environmental Microbiology, Vol. 44, n°.6, pp. 1415-1426

VAREL, V.H (1983)

Characteristics of Bacteria in Thermophilic Digesters and Effects of Antibiotics on Methane Production.

Congrès : Fuel Gas Development, pp. 19-47

WILDENAUER, F.X., K.H. BLOTEVOGEL, J. VINTER (1984)

Effect of Monensin and 2 Bromoethanesulfonic Acid on Fatty Acid Metabolism and Methane Production from Cattle Manure.

Applied Microbiology Biotechnology, Vol. 19, pp. 125-130

ZINDER, S.H., T. ANGUISH, S.C. CARDWELL (1984)

Effects of Temperature on Methanogenesis in a thermophilic 58° Celsius Anaerobic Digester.

Applied Environmental Microbiology, Vol. 47, n°.4, pp. 808-813