

Procédure de vérification du système de collecte du méthane émis par les ruminants

Yvonne Rochette¹ - Michel Fabre² - Jean-Pierre Jouany¹ - Cécile Martin¹

Dans le cadre de l'utilisation d'une technique destinée à mesurer la production de méthane (CH₄) par le ruminant, il est primordial de s'assurer de l'étanchéité du dispositif de collecte des gaz. En effet, cette technique repose sur la dilution d'un gaz traceur introduit dans le rumen et le rapport des concentrations des gaz à analyser. La qualité d'échantillon gazeux obtenu dépend entre autre, d'une bonne étanchéité de l'ensemble du circuit de collecte. Or, celui-ci est constitué de différents éléments pouvant présenter des fuites ou micro-fuites au niveau des connexions difficiles à déceler à l'œil nu et à l'origine de contaminations de l'échantillon par l'air ambiant. L'objectif de notre travail a été de mettre en place une procédure de vérification du système de collecte des gaz émis par les ruminants. Elle permet de vérifier, étape par étape, le bon fonctionnement de ce matériel, avant chaque mise en service et durant toute la période expérimentale. Enfin, une procédure sous forme "d'arbre de décision" a été établie pour permettre aisément et rapidement de déceler les problèmes et d'y remédier.

Mots clés : méthane, ruminant, système de collecte des gaz, vérification d'étanchéité.

Abréviations : CH₄: méthane, SF₆: hexafluorure de soufre, CPG: chromatographie en phase gazeuse

1. Introduction

La méthanogénèse constitue pour le ruminant une perte en énergie sous forme gazeuse estimée à environ 8% de l'énergie brute ingérée et 12% de l'énergie digestible. Les émissions de méthane par les ruminants participent également à raison de 2 à 3 % à l'aggravation de l'effet de serre. Le méthane provient essentiellement (95%) des fermentations digestives ruminales et est rejeté par voie orale au cours d'éructions régulières. Parmi les techniques utilisées pour quantifier la production de méthane, celle de la chambre respiratoire permet de quantifier directement les émissions totales de gaz, mais reste limitée à l'utilisation d'animaux entravés recevant une alimentation contrôlée. La technique retenue pour mesurer *in vivo* la production de gaz à l'auge ou au pâturage est celle de Johnson et al (1994). Cette méthode repose sur le principe de dilution d'un gaz traceur inerte introduit dans le rumen. Ce gaz traceur, l'hexafluorure de soufre (SF₆), se mélange alors aux gaz issus des fermentations ruminales (CH₄, CO₂,...) et se comporte de la même façon que ces derniers. On considère alors que les émissions du SF₆ simulent celles du CH₄ produit par l'animal. Le SF₆ est introduit dans le rumen sous forme d'une dose unique *via* une capsule perméable dont la vitesse de diffusion du SF₆ (en ng/mn) a été préalablement déterminée *in vitro*. Un licol placé sur la tête de l'animal porte un capillaire métallique connecté à une boîte fixée sur son cou dans laquelle est

¹ INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores, Equipe Digestion Microbienne et Absorption, Centre de Clermont Ferrand/Theix, 63122 Saint Genés Champanelle.

² INRA, Unité de Recherches sur les Herbivores, Installation Expérimentale, Centre de Clermont Ferrand/Theix, 63122 Saint Genés Champanelle

recueilli un échantillon représentatif des gaz expirés et éructés (**figure 1**) utilisé ensuite pour déterminer les concentrations en SF₆ et CH₄. A partir de ces concentrations, et connaissant la vitesse de diffusion du SF₆ de la capsule, on en déduit la vitesse de production du méthane. Il est donc primordial de recueillir un échantillon gazeux représentatif des gaz émis au niveau bucco-nasal de l'animal.

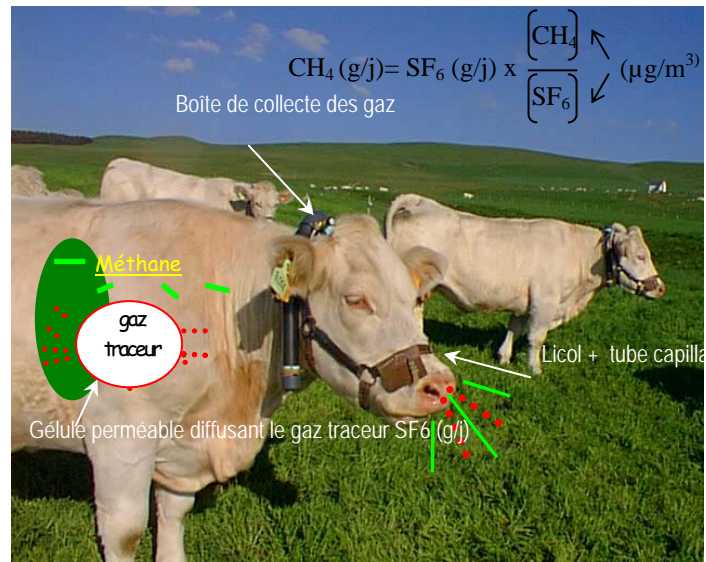


Figure 1: bovin équipé du dispositif de collecte des gaz

2. Dispositif de collecte des gaz

2.1. Description

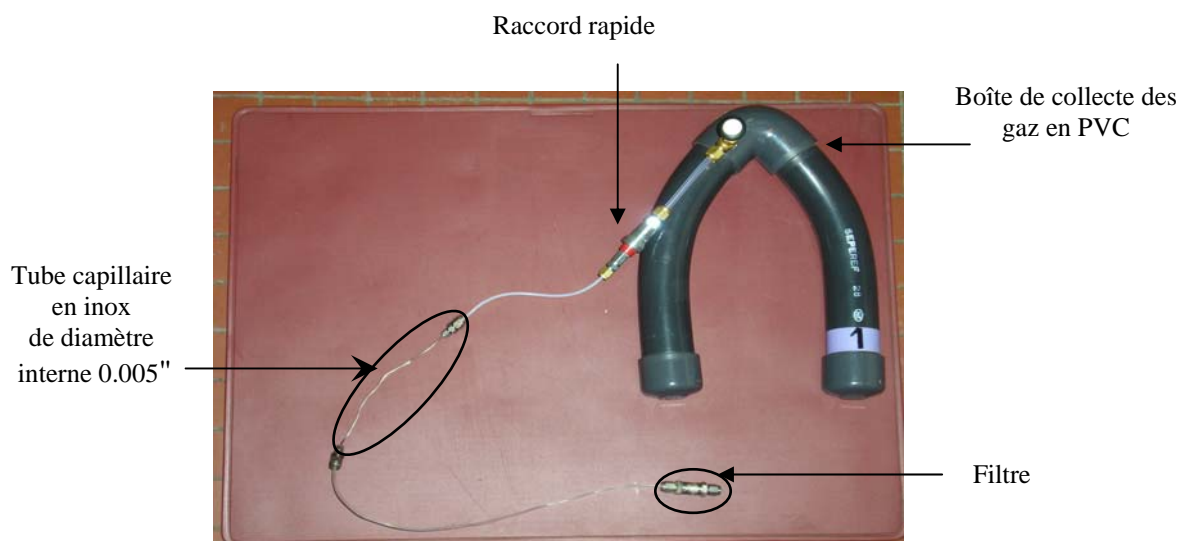


Figure 2: les différents composants du système de collecte des gaz

Le système de collecte des gaz (**figure 2**) se compose de 3 parties:

1 - une boîte en PVC placée autour du cou de l'animal dans laquelle les gaz émis sont collectés

2 - un capillaire en acier inoxydable dont la longueur et le diamètre interne (0.005") régulent le débit d'introduction des gaz dans la boîte

3 - un filtre situé à l'extrémité du tube capillaire (à proximité des naseaux) évite l'obstruction du capillaire par des particules alimentaires ou les mucosités nasales et salivaires.

Ces 3 parties sont reliées entre elles par du tube capillaire en Téflon et des connexions de type Swagelock. Elles sont ensuite fixées sur un licol adapté à la taille de la tête de l'animal

2.2. Principe du prélèvement

La boîte de collecte des gaz est mise sous vide (-1 atm) au laboratoire, puis elle est fermée avant d'être posée sur l'animal. A l'ouverture du robinet, la force d'aspiration exercée par le vide interne de la boîte, associée à la force de rétention liée au passage dans le capillaire, permet une aspiration régulière et linéaire des gaz.

2.3. Conditions d'échantillonnage

Deux conditions de remplissage sont requises pour obtenir un échantillon correct.

1 - L'échantillonnage doit être représentatif des gaz érucés par l'animal sur une période préalablement définie par l'expérimentateur (généralement, 24h de prélèvement) et doit correspondre au remplissage de la moitié de la boîte en PVC (pression finale = 1/2 pression initiale) (cf paragraphe IV).

2 - L'ensemble du circuit de prélèvement ne doit pas présenter de fuites. (cf paragraphe 4).

2.4. Analyse des gaz prélevés

En fin de prélèvement gazeux, la boîte en PVC est fermée puis retirée du cou l'animal. Avant analyse des gaz, la boîte est mise en surpression (environ + 1.2 atm) avec un gaz neutre de type Azote. La pression interne de la boîte est relevée avant et après addition d'azote afin de calculer le facteur de dilution. Les gaz (SF_6 et CH_4) sont mesurés par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) (**figure3**). L'échantillon gazeux est en surpression dans la boîte, ce qui permet son injection dans le système chromatographique. La détermination de la concentration de ces deux gaz est obtenue à partir d'échantillons étalons de SF_6 et de CH_4 de concentrations connues et sont injectés dans les mêmes conditions que les échantillons à analyser.

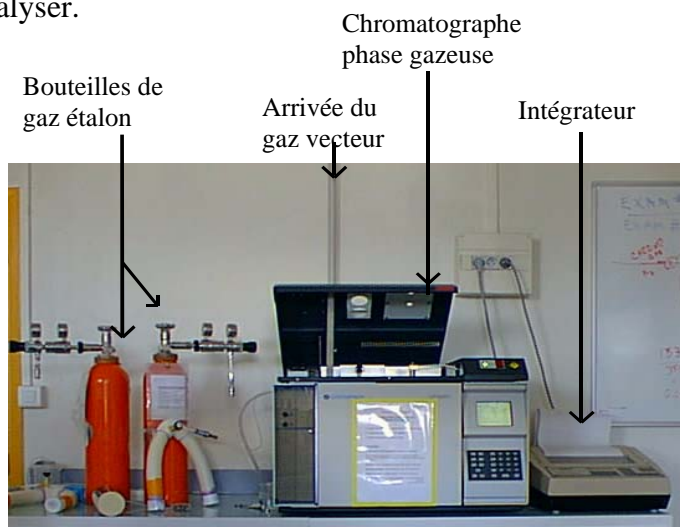


Figure 3 : *Système d'analyses chromatographiques des gaz*

- Analyse du Méthane

La concentration en méthane dans la boîte est déterminée par chromatographie en phase gazeuse (CPG). Le système CPG est constitué d'une boucle d'échantillonnage de 1ml, d'une colonne remplie de phase PorapaK N et d'un détecteur à ionisation de flamme. Le flux d'hélium, utilisé en tant que gaz vecteur est de l'ordre 30ml/mn. Le four est maintenu à 60°C et le bloc détecteur à 200°C.

- Analyse de l'hexafluorure de soufre

L'hexafluorure de soufre est mesuré en utilisant un chromatographe équipé d'un détecteur à capture d'électrons. L'échantillon est injecté dans l'appareil *via* une boucle d'échantillonnage de 1 ml. On utilise une colonne remplie de phase Moléculaire Sieve 5A (40-60 mesh) maintenue dans le four en isothermie à 50°C. La température du bloc détecteur est de 275°C et le flux de gaz vecteur (Azote) est voisin de 30 ml/mn.

3. Procédure permettant de vérifier Le système d'aspiration et de remplissage de la boîte

Cette vérification systématique est effectuée au laboratoire. Elle permet d'une part de vérifier le remplissage correct de la boîte sur une période définie, et d'autre part, de contrôler l'absence d'obstruction du circuit.

La procédure consiste à mettre la boîte de collecte sous vide à l'aide d'une pompe à vide, puis à la connecter sur le circuit et à l'ouvrir. La valeur initiale de vide est lue sur un enregistreur de pression de type manomètre (pression initiale d'environ -1 atm). Elle est ensuite enregistrée au bout de 24 h de prélèvement. En condition normale de remplissage, la valeur finale lue est de l'ordre de la moitié de la pression initiale. Si celle-ci est trop proche de la valeur initiale, soit le capillaire est trop long, soit le circuit est obstrué. Si la valeur lue correspond à la valeur de pression atmosphérique, une fuite subsiste probablement entre le capillaire et la boîte.

Cette procédure ne permet pas de vérifier l'étanchéité entre le capillaire et le filtre et devra être complétée par une procédure de vérification de l'étanchéité du circuit complet comme décrit ci-dessous.

4. Procédures permettant de vérifier l'étanchéité du circuit et de localiser les fuites

Les fuites peuvent être présentes à n'importe quel niveau du système de collecte et sont très difficiles à détecter à l'œil nu. L'assemblage des différents éléments du circuit de prélèvement gazeux (boîte + capillaire + tube téflon + filtre) est réalisé à l'aide de diverses connexions en inox de type Swagelock. Les différents éléments du circuit, ainsi que les systèmes d'assemblage utilisés, sont autant d'éléments susceptibles de présenter des problèmes d'étanchéité. Par exemple, la boîte et les tubulures en Téflon peuvent présenter des micro-coupures, alors que les différents raccords d'assemblage peuvent être mal serrés ou endommagés.

4.1. Vérification de L'étanchéité du circuit

Cette vérification doit être systématique sur un dispositif neuf, mais également dès changement de pièce ou intervention sur le système.

Le mode opératoire est le même que celui décrit ci-dessus, la seule différence réside dans la fermeture du circuit de prélèvement au niveau du filtre à l'aide d'une fêrule étanche (**figure 4**). Une boîte dans laquelle est effectué le vide est branchée au système de collecte. La valeur de vide est mesurée à l'aide d'un enregistreur de pression avant et après branchement (au bout de 24h). En l'absence de fuite dans le circuit, la pression finale devra être sensiblement la même que celle relevée initialement. Dans le cas contraire, une différence de pression traduira une entrée d'air dans le circuit. On considère qu'une fuite subsiste dans le circuit lorsque cette différence est supérieure à 5%.



Figure 4: *Système de fermeture du circuit de prélèvement des gaz*

Fêrule d'obstruction du circuit positionnée au niveau du filtre

4.2. Deux Procédures permettent de localiser une fuite dans le circuit

4.2.a. La première procédure (figure 5) est simple d'application, mais oblige le retrait de l'ensemble du système installé sur l'animal (licol, capillaires et boîte). Elle consiste à immerger dans une bassine d'eau l'ensemble du circuit préalablement obturé et branché à une boîte mise en surpression ($P = + 1 \text{ atm}$) avec un gaz neutre de type Azote. En présence de fuite, des bulles s'échappent du circuit, permettant ainsi de la localiser et d'y remédier (resserrage, changement de tubulure...).



Boîte mise en surpression avec de l'azote

Fermeture du circuit des gaz à l'aide d'une fêrule d'obstruction

Figure 5: *Localisation des fuites dans le circuit de prélèvement des gaz par immersion dans l'eau*

Mode opératoire:

1. Fermer le circuit au niveau du filtre
2. Mettre la boîte de collecte en surpression (+1atm) avec un gaz neutre
3. Connecter la boîte au circuit
4. Observer si des bulles s'échappent de l'ensemble du circuit plongé dans une bassine d'eau

4.2. b. Une seconde procédure (Figure 6) permet de localiser la fuite dans le circuit de collecte en position sur l'animal. Elle repose sur l'interprétation des mesures réalisées sur l'échantillon de gaz collecté dans la boîte. En effet, la valeur de pression finale, ainsi que les résultats d'analyse chromatographique de l'échantillon gazeux sont de bons indicateurs d'étanchéité.

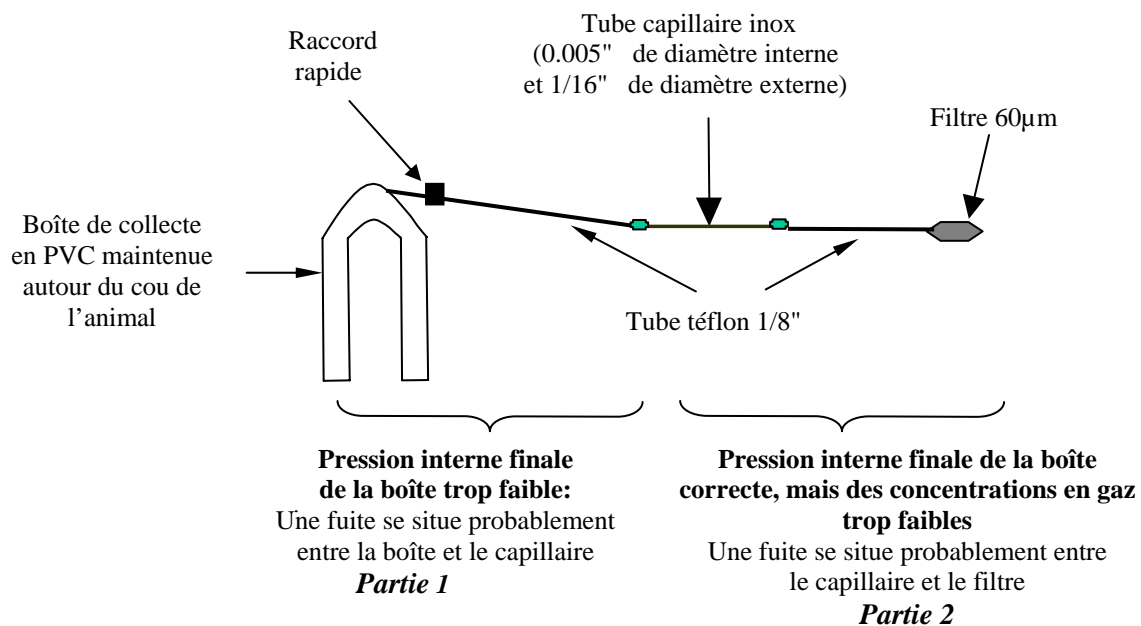


Figure 6 : Localisation des fuites dans le système, par interprétation des mesures de pression finale dans la boîte (en fin de période de prélèvement gazeux) et des résultats d'analyses chromatographiques

Deux cas de figure peuvent se présenter selon la localisation de la fuite dans le circuit.

Cas n°1 - En fin de prélèvement gazeux, une pression finale dans la boîte équivalente à la pression atmosphérique, témoigne d'une fuite située entre le capillaire et la boîte. Dans ces conditions la vitesse de remplissage de la boîte a été trop rapide, voire instantanée. On peut alors en déduire que l'aspiration de l'échantillon gazeux a eu lieu en aval (*partie 1*) du capillaire puisque l'effet de rétention exercé par ce dernier n'a pas été réalisé. L'échantillon ne sera donc pas représentatif d'un prélèvement continu réalisé à l'échelle de temps fixée et sera fortement contaminé par l'air ambiant.

Cas n°2- Une fuite localisée entre le capillaire et le filtre (*partie 2*) entraînera une vitesse de remplissage régulière, mais avec un lieu de prélèvement trop éloigné des naseaux et bouche

de l'animal. Dans ce cas, la pression finale sera correcte (-1/2 pression initiale), mais les résultats d'analyses chromatographiques seront très faibles, voir proches de ceux obtenus sur l'air ambiant. Ainsi, l'échantillon de gaz est dilué par l'air ambiant. et n'est pas représentatif des gaz érucés par l'animal.

Mode opératoire

- 1. En fin de prélèvement, relever la pression interne de la boîte à l'aide d'un enregistreur de pression*
- 2. Diluer puis mettre en surpression l'échantillon gazeux contenu dans la boîte, à l'aide d'un gaz neutre*
- 3. Injecter l'échantillon gazeux dans le chromatograhe puis relever les concentrations obtenues*

5. Mise en place d'une procédure de vérification sous forme d'arbre de décision

Cette procédure (**Figure 7**) permet aisément de suivre par étapes, l'état du circuit de prélèvement. Dans un premier temps, elle repose sur l'interprétation de la mesure de la pression dans la boîte de collecte des gaz. Lorsque celle-ci est correcte, la deuxième étape consiste à valider les analyses chromatographiques des gaz de l'échantillon collecté sur l'animal.

Référence Bibliographique

Johnson K., Huyler M., Westberg H., Lamb B., Zimmerman P., 1994. A SF₆ Tracer Technique: Methane Measurements from Ruminants. *Environnemental sciences and technology*, 28, 359-362.

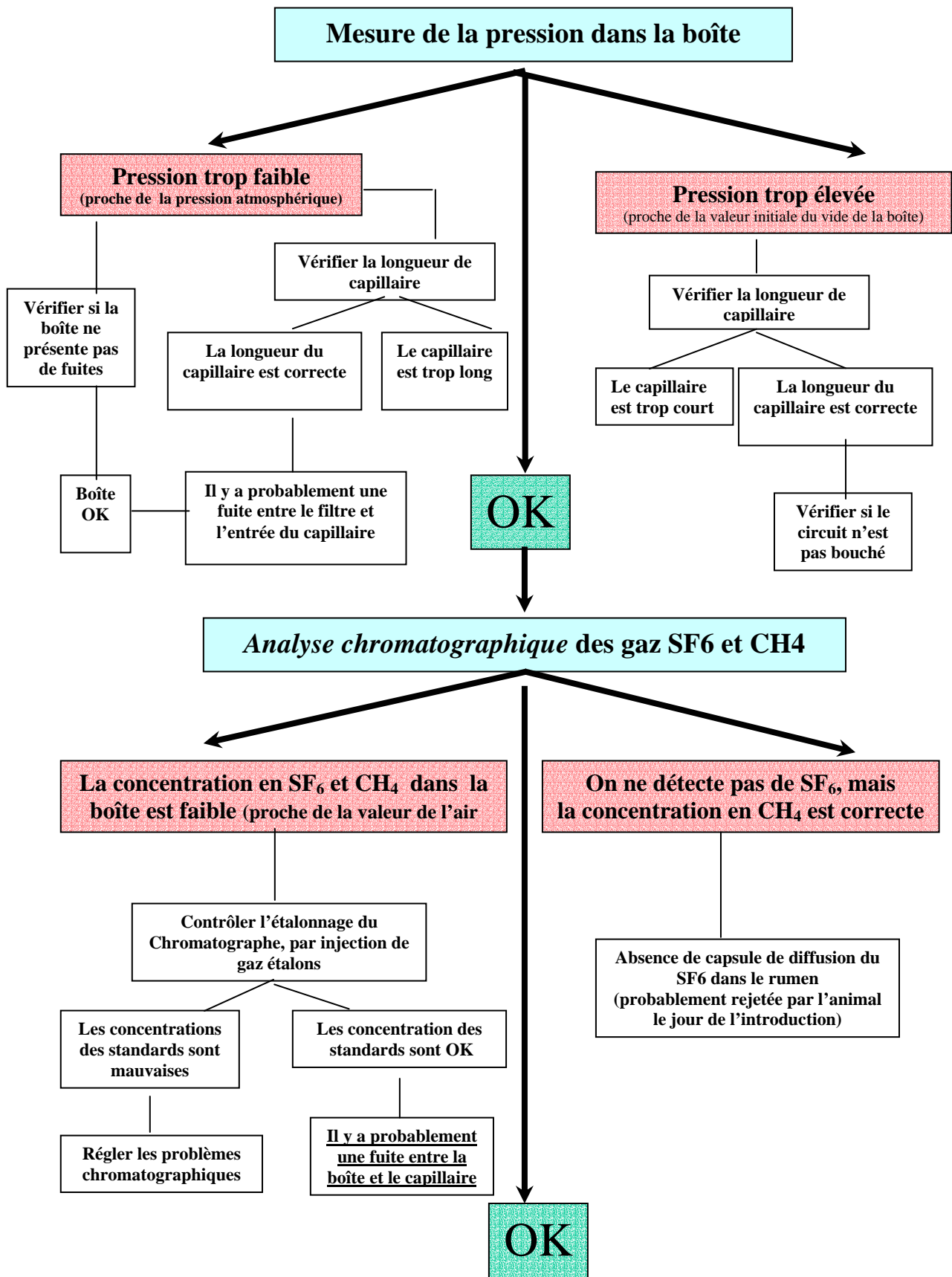


Figure 7: Procédure de vérification du système de collecte des gaz sous forme d'arbre de décision