



*Master 1*

*Eaux Sols Environnement*

# Etude du fonctionnement d'un pilote expérimental Système de boues activées

Par

DAUNIS Mélanie  
CHAMPREDONDE Renaud  
BLESBOIS Edouard

Unité d'Ecologie microbienne et traitement biologique des eaux

Responsable : Evelyne BUFFAN-DUBAU

# TABLE DES MATIERES

I. Introduction .....	3
II. Présentation du pilote.....	3
1. Mise en place du pilote.....	3
2. Principe de fonctionnement :.....	5
III. Mesures .....	6
1. Paramètres de fonctionnement du pilote.....	6
2. Matières en suspension .....	6
3. Dosage de l'azote ammoniacal .....	6
4. Demande chimique en oxygène.....	7
5. Dosage du phosphore réactif soluble.....	8
IV. Résultats .....	9
1. Matières en suspension .....	9
2. L'azote ammoniacal .....	10
3. Demande Chimique en Oxygène .....	10
4. Phosphore soluble .....	11
5. Charge massique .....	12
6. Age des boues .....	13
7. Observation des boues .....	13
a. La coloration GRAM.....	13
b. Observation des boues à la cellule de Thoma .....	16
V. Discussion.....	18
VI. Conclusion .....	20

# **I. Introduction**

Cette étude s'inscrit dans le cadre de la formation du Master ESE, et fait partie intégrante du module d'écologie microbienne. La majeure partie de cet enseignement a consisté en une caractérisation et une analyse du traitement de l'eau. C'est donc dans le cadre technique de la présentation des procédés régissant le contrôle et la qualité de l'eau que nous allons étudier un pilote expérimental d'épuration de l'eau.

Le but de cette étude est de réaliser les mesures et dosages nécessaires à la caractérisation du fonctionnement du pilote.

## **II. Présentation du pilote**

### **1. *Mise en place du pilote***

Le pilote utilisé en travaux pratiques se trouve dans une salle du bâtiment 4R3. Il est composé d'un conteneur pour l'eau résiduelle urbaine de synthèse, d'un réacteur de 3 Litres, d'un décanteur à boues de 3,8 Litres et d'un récipient de récupération de l'eau épurée. Les boues utilisées proviennent de la station d'épuration de Ginestous. Chaque élément du montage est relié au suivant par un système de tuyaux et de pompes. Il n'y a pas de débit de purge, celle-ci est réalisée régulièrement de façon manuelle. La veille de notre séance de travaux pratiques le réacteur a débordé ; les résultats des mesures seront donc à prendre avec précaution.

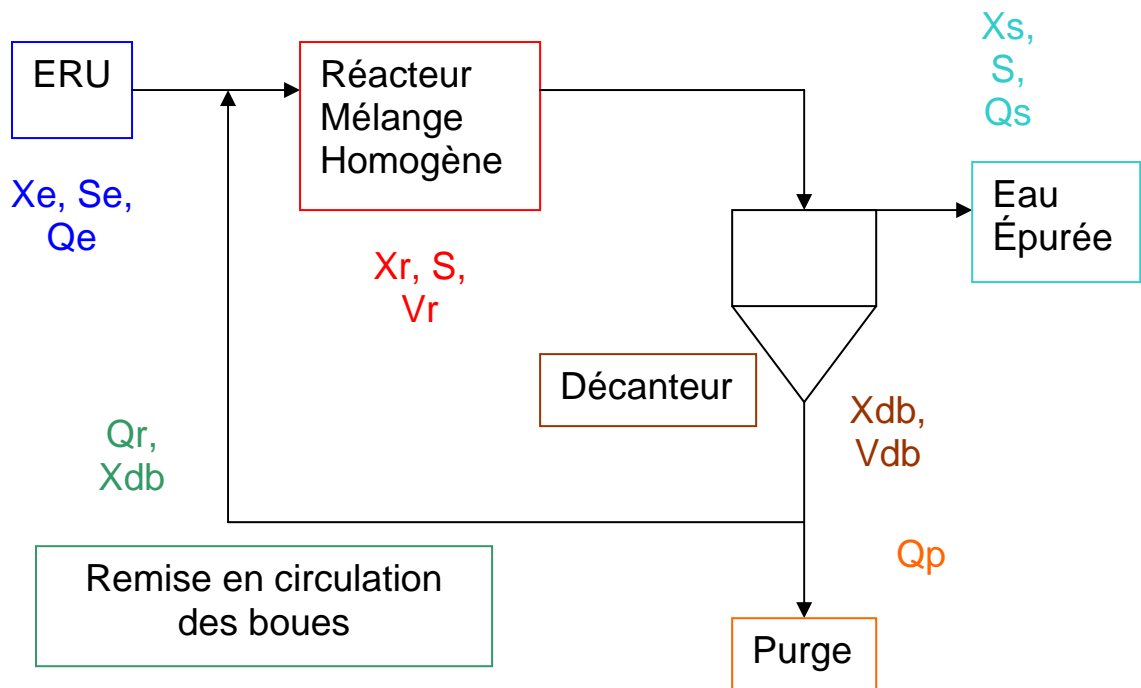


Figure 1 : Schématisation de pilote



Figure 2 : Système de stockage et de refroidissement de l'ERU de synthèse.

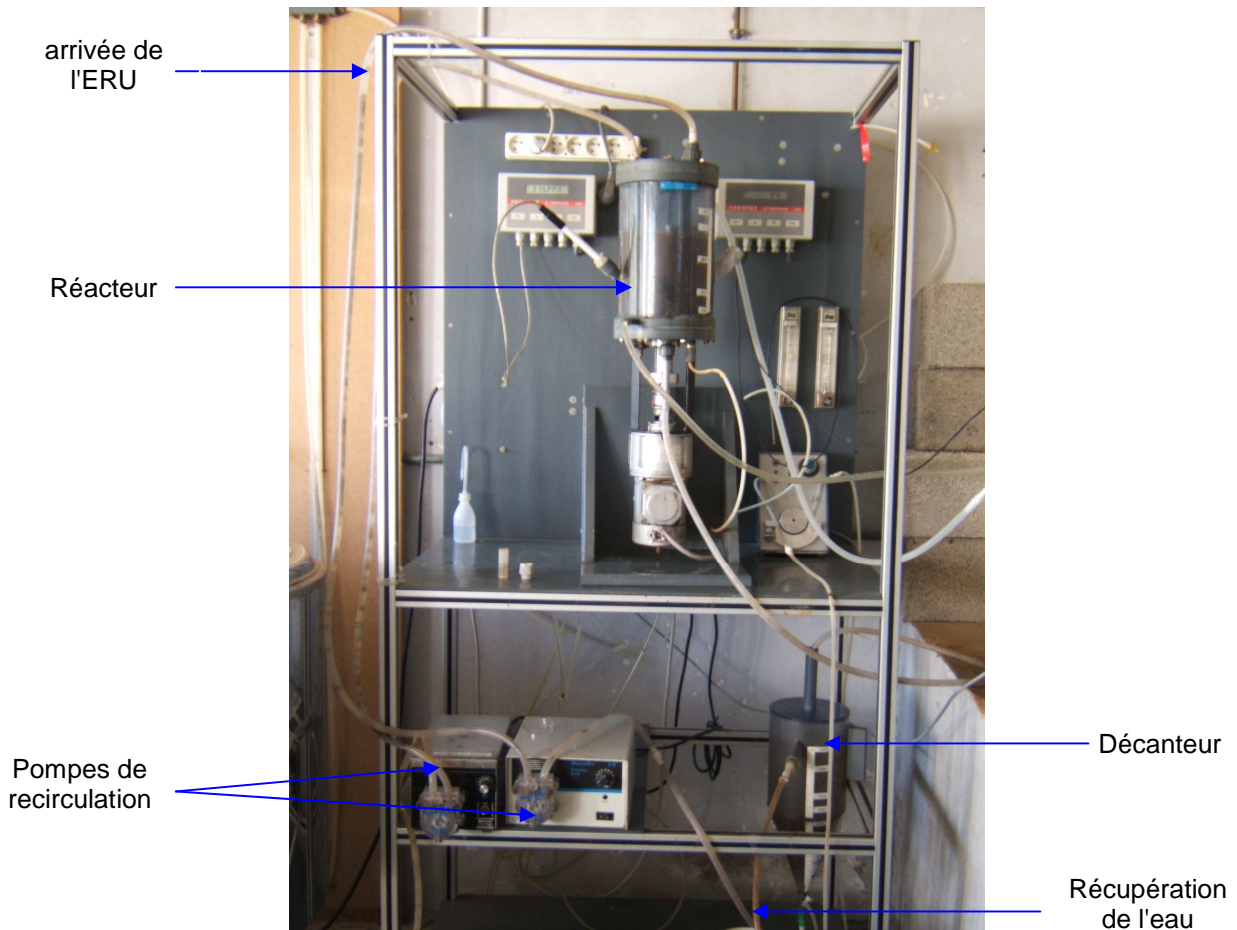


Figure 3 : Mise en place du pilote en salle de travaux pratiques.

## 2. Principe de fonctionnement :

L'eau résiduelle urbaine est chargée en substrat  $S_e$ , et en matière organique à une concentration  $X_e$ . Elle arrive dans le réacteur avec un débit  $Q_e$ . Le réacteur contient des micro-organismes qui sont utilisés pour réduire le substrat en matière organique. Le débit d'eau en sortie du réacteur est le même que celui d'entrée. L'eau contient du substrat  $S$  et de la matière organique dont une grande partie est récupérée dans le décanteur. Le mélange micro-organismes et matière organique forme les boues, réintroduite au débit  $Q_r$  dans le réacteur. L'aération du système fournit l'oxygène nécessaire aux organismes pour dégrader le substrat, les boues sont "activées". Elles sont plus efficaces car elles ont déjà été en contact avec le substrat traité et pourront ainsi débiter sa dégradation sans période de latence.

### III. Mesures

#### 1. Paramètres de fonctionnement du pilote

On mesure la température du système, les divers volumes de boues ainsi que les débits nécessaires à la caractérisation du pilote. Le pH n'est pas mesuré car la sonde utilisée est neuve et non adaptée au réacteur.

#### 2. Matières en suspension

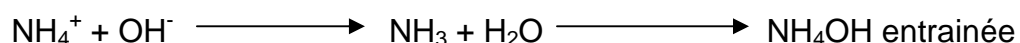
Les matières en suspension sont mesurées par filtration et par centrifugation d'après la norme NF T 90-105.

- Par filtration pour l'ERU et l'eau épurée : on pèse un filtre en fibre de verre (Whatmann GF/C) préalablement séché au dessiccateur, noté P1 (mg). On filtre sur ce dernier un volume connu V d'échantillon. Le tout est séché 3h à l'étuve à 100°C, avant d'être pesé, la masse obtenue est notée P2 (mg). Ainsi on en déduit la quantité de MES qui est égale à :  $(P2-P1)/V$  (mg/L). On recueille le filtrat pour le dosage des orthophosphates.
- Par centrifugation pour les prélèvements dans le réacteur et le culot du décanteur : on prélève un volume V d'échantillon, que l'on centrifuge à 5000g pendant 20 minutes. Soit P1 la masse d'une coupelle de pesée, préalablement séchée 10 minutes au dessiccateur. On récupère le culot dans cette coupelle, puis on sèche le tout durant 3h à 100°C à l'étuve. On note P2 la masse de la coupelle + le culot. On en déduit la masse de MES qui est égale à  $(P2-P1)/V$  (mg/L)

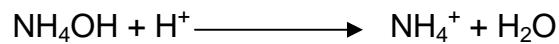
La quantité de matières volatiles en suspension est calculée avec l'approximation :  $MVS = MES/1,2$ .

#### 3. Dosage de l'azote ammoniacal

En milieu alcalin et tamponné, l'ammoniaque libre est entraîné par la vapeur.



Ces vapeurs sont ensuite condensées puis neutralisent une solution d'acide sulfurique titrée.

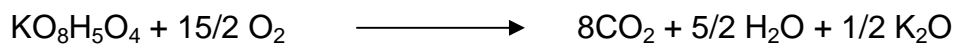


On réalise alors le dosage en retour de l'acide en excès. La neutralisation de l'acide se fait par la soude. Le protocole est indiqué en salle de travaux pratiques et correspond à la norme AFNOR NF T 90-110.

#### **4. Demande chimique en oxygène**

Ce dosage se fait d'après la norme AFNOR NF T 90-101. Son but est de mesurer la quantité d'agent oxydant consommé par la matière organique de l'échantillon. La mesure est aussi réalisée sur une solution standard d'hydrogénophthalate de potassium dit KHP.

Le dosage de la DCO de cette solution se fait selon la réaction suivante :



L'oxydation complète d'une mole de KHP est réalisée avec  $15/2 \text{O}_2$ .

340,36 mg/L de KHP correspondent à  $1,67 \cdot 10^{-3}$  mol/L de KHP et 0,0125 mol/L d'  $\text{O}_2$   
D'où la DCO Théorique de 400,23 mg d'  $\text{O}_2$ /L.

Pour les calculs, on utilise les normalités, en moles d'équivalents par litre de solution.

Calcul de la normalité du sel de Mohr :

$$N_{\text{sel de Mohr}} = V_{\text{dichromate}} \times N_{\text{dichromate}} / V_{\text{sel de Mohr}}$$

Calcul de la normalité du dichromate :

$$N_{\text{dichromate}} = N_{\text{sel de Mohr}} \times V_{\text{burette}} / (V_{\text{dichromate}} \times 2 \text{ pour la dilution, ERU uniquement})$$

Calcul de la DCO :

$$\text{DCO} = 8000 (N_{\text{dichromate blanc}} - N_{\text{dichromate échantillon}}) \text{ en mg/L}$$

Les mesures sont effectuées sur un blanc (eau déminéralisée), la solution de KHP, l'eau épurée et l'ERU. Les deux premières solutions sont utilisées pour déterminer les erreurs sur les mesures des deux dernières, et vérifier nos résultats.

### **5. Dosage du phosphore réactif soluble**

La dernière détermination effectuée s'intéresse à la quantité de phosphore soluble que contient l'effluent du réseau urbain, ainsi que celle de l'eau épurée. Pour ce faire, nous allons nous intéresser à la détermination de la concentration en orthophosphates par le procédé de réduction. Cette réaction est initiée par l'acide ascorbique du complexe phosphomolybdique formé en milieu acide avec de l'ammonium heptamolybdate et du tartrate double d'antimoine et de potassium (réactif combiné).

La méthode utilisée pour évaluer ces concentrations est celle de la spectrophotométrie, qui consiste en une méthode de caractérisation ou de mesure basée sur la mesure de l'absorbance, ou la transmission, d'une solution à une longueur d'onde donnée. A l'aide de la droite d'étalonnage  $\text{D.O.} = f [ \text{PO}_4^{3-} / \text{P- PO}_4^{3-} ]$  (Densité Optique) nous déterminerons la concentration en orthophosphates de la solution.



## IV. Résultats

Dans cette partie, nous allons présenter les résultats obtenus lors de l'expérimentation. Les quatre paramètres étudiés et présentés ci-dessous sont les plus représentatifs de l'étude de la qualité d'une eau.

### 1. *Matières en suspension*

Les dosages effectués lors de la séance de manipulation ont conduit aux résultats suivants (tableau 1) :

MES					
	V (mL)	P1 (g)	P2 (g)	MES (mg/L)	MVS (mg/L)
réacteur	10	2.3512	2.3631	1190	991.7
culot	10	2.3430	2.3615	1850	1541.7
ERU	50	0.0890	0.1160	540	450
EE	50	0.0900	0.1060	320	266.7

Tableau 1 : Résultats des Matières En Suspension (MES)

Ces résultats montrent une très forte concentration en MES dans le culot, ce qui s'explique par la décantation qui est le processus privilégié dans cette partie du dispositif. Ensuite, notre attention se porte sur les différences entre l'Eau du Réseau Urbain (noté ERU dans tableau) et l'Eau Epurée (noté EE dans le tableau). Nous constatons une baisse significative de la teneur en MES. De même, les Matières Volatiles Sèches (MVS) baissent fortement entre l'eau à traiter et l'eau épurée. Nous pouvons calculer l'efficacité du système sur le traitement des MES et des MVS :

$$E_{MVS} = \frac{450 - 266.7}{450} = 40.7 \%$$

$$E_{MES} = \frac{540 - 320}{540} = 40.7 \%$$

Nous obtenons donc une efficacité de 40 % sur les deux procédés.

## 2. L'azote ammoniacal

Les dosages concernant l'azote ammoniacal sont regroupés dans le tableau suivant (tableau 2) :

<b>NH<sub>4</sub><sup>+</sup></b>		
	V OH <sup>-</sup> (ml)	[NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ] (mg/L)
blanc	11.6	0.0205
EE	11.8	0.0205
ERU	12.8	0.0223
étalon	11.8	0.0205

Tableau 2 : Résultats de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>

Les quantités d'azotes contenus dans notre milieu sont en proportions faibles. Ces concentrations ne permettent donc pas une mesure fiable aux vues des conditions techniques employées. Nous constatons que le blanc, la solution étalon et l'eau présentent une concentration identique en NH<sub>4</sub><sup>+</sup>.

Nous pouvons effectués le calcul de l'efficacité du système concernant l'épuration de l'eau du point de vue de l'azote. Nous obtenons :

$$E_{NH_4^+} = \frac{0.0223 - 0.0205}{0.0223} = 8\%$$

Ce rendement correspond à une efficacité peu élevée.

## 3. Demande Chimique en Oxygène

Après une manipulation minutieuse du fait du caractère dangereux des réactifs, nous avons obtenus les valeurs concernant la Demande Chimique en Oxygène qui sont regroupées dans le tableau suivant (tableau 3) :

<b>DCO</b>				
	V sdm	N dichromate	DCO (mg/L)	DBO5
eau déminéralisée	20.12	0.239		
ERU	12.39	0.079	1277	510.8
eau épurée	13.94	0.166	584	233.6
KHP	13.34	0.159	640	

Tableau 3 : Résultats de la DCO pour les échantillons testés

Nous observons une teneur importante en DCO dans l'effluent. Ceci est du à l'origine des boues (station d'épuration de Ginestous). Nous pouvons également calculer le rendement du pilote concernant l'épuration de l'eau en termes de DCO :

$$E_{DCO} = \frac{1277 - 584}{1277} = 54.3 \%$$

$$E_{DBO_5} = \frac{510.8 - 233.8}{510.8} = 54.3 \%$$

Nous constatons que la moitié de la concentration en DCO et en DBO<sub>5</sub> est éliminée.

#### **4. Phosphore soluble**

Détermination de la droite d'étalonnage :

Nous avons procédé à quatre solutions diluées de PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> dont nous avons déterminé l'absorbance. Les résultats sont indiqués dans le tableau suivant :

Concentration en mg/l	Densité optique
0.2	0.085
0.4	0.17
0.6	0.258
0.8	0.34

Tableau 4 : Résultats de la mesure de la densité optique pour les quatre concentrations

La droite d'étalonnage ainsi obtenue nous permet de calculer les concentrations en orthophosphates de la solution. En effet, pour chaque point de cette droite, la connaissance de la densité optique (D.O.) correspondra à la concentration recherchée.

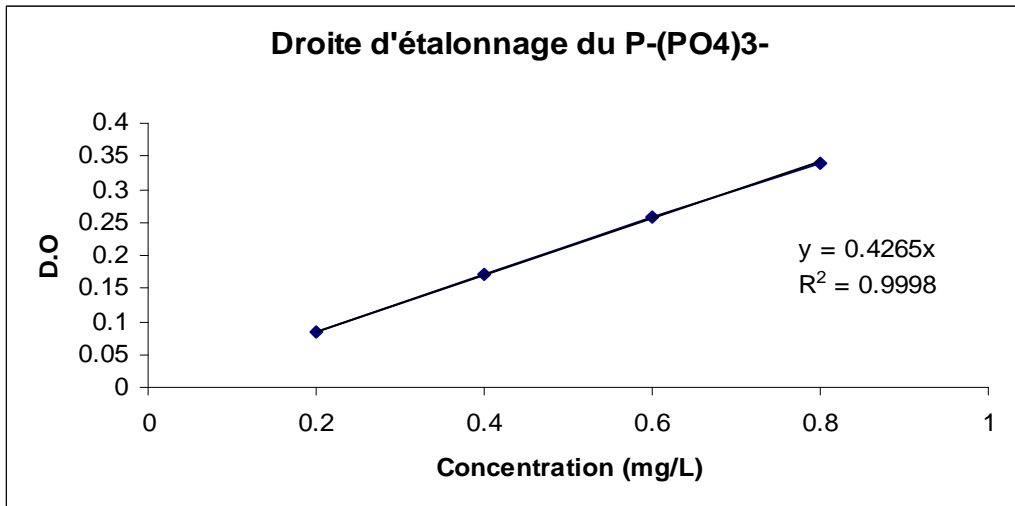


Figure 5 : Droite d'étalonnage du P-PO43-

Nous procédons ainsi à la mesure de la densité optique à 700 nanomètres des trois échantillons qui sont : un test sur un blanc à partir d'une solution d'eau déminéralisée, puis sur les solutions provenant de l'eau résiduaire urbaine et de l'eau épurée. Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant (tableau 6) :

Phosphore réactif soluble	
	[PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> ] (mg/L)
ERU	0.4174
EE	0.4056

Tableau 5 : Résultats des concentrations en Phosphore

Nous pouvons calculer l'efficacité de ce pilote en ce qui concerne le phosphore :

$$E_{P-PO_4^{3-}} = \frac{0.4174 - 0.4056}{0.4174} = 2.8\%$$

Nous constatons que l'efficacité de ce pilote concernant l'épuration en termes de phosphore est très faible.

## 5. Charge massique

Les concentrations en DBO obtenus plus haut, vont nous permettre de calculer la charge massique. La charge massique se définit ainsi :

$$\text{charge massique appliquée} = \frac{Q_e * DBO}{X_{réacteur} * V_{réacteur}}$$

Appliquée à notre système, nous obtenons :

$$\text{charge massique appliquée} = 3.21 \text{ kg DBO} / \text{kg MVS} / \text{j}$$

Ce qui correspond à un procédé de type à forte charge massique.

## 6. Age des boues

Cette notion renseigne sur le temps de séjour des boues dans le pilote et sur le type de biomasse présente. Ce paramètre influe sur la qualité du traitement biologique, plus les boues sont âgées et plus le degré de minéralisation des boues est élevé et meilleurs sont les rendements épuratoires.

Nous allons déterminer l'âge des boues par la formule suivante :

Exprimons tout d'abord le stock des boues :

$$\begin{aligned} \text{Stock des boues} &= \text{MES}_{\text{réacteur}} * V_{\text{réacteur}} + \text{MES}_{\text{culot}} * (V_{\text{culot}} + V_{\text{tuyau}}) + \text{MES}_{\text{eau_épurée}} * (V_{\text{décanteur}} - V_{\text{culot}}) \\ \text{Stock des boues} &= 5124 \text{ mg} \end{aligned}$$

Or nous avons la réaction suivante entre le débit d'entrée et le débit de sortie :

$$\text{Débit d'entrée} = \text{débit de sortie} = 18,7 \text{ L/j}$$

De plus, nous avons :

$$\text{Flux de sortie} = \text{MES}_{\text{eau_épurée}} * Q_{\text{sortie}} = 5984 \text{ mg/j}$$

Nous obtenons donc :

$$\text{Age des boues} = \frac{\text{Stock de boues}}{\text{Flux de boues sortant}} = \frac{5124}{5984} = 0,86 \text{ j}$$

## 7. Observation des boues

### a. La coloration GRAM

Culture des bactéries :

Après filtration de l'eau résiduelle urbaine, on réalise une culture spécifique des bactéries qui nous intéressent, en particulier les coliformes. On favorise le développement des bactéries Gram- en réalisant la culture avec du tergitol TTC. En effet, les bactéries coliformes fermentent le lactose et sont incapables de réduire le

TTC. Elles se développent à 44°C. On utilise aussi un indicateur coloré : le bleu de bromophénol. Lors de la fermentation du lactose, le pH diminue, l'indicateur coloré passe du bleu au jaune. Les bactéries qui réduisent le TTC sont entourées d'un halo rouge caractéristique.

Principe de la coloration GRAM :

On fait une suspension cellulaire des bactéries de culture. Il faut étaler une goutte de cette suspension peu dense sur une lame de verre, puis la sécher délicatement à la flamme. On fixe alors les cellules en écrasant la lame sur la flamme.

La première étape de coloration se fait avec du **violet de Gentiane**. Après une minute, toutes les cellules sont colorées en mauve. On rince à l'eau distillée.

Puis on utilise le **lugol** comme agent mordant durant une minute, avant de rincer délicatement à l'eau et d'éponger avec du papier.

L'**éthanol** décolore spécifiquement les cellules à enveloppe pauvre en polymères hydrophiles. On arrête son action après 30 secondes par un rinçage à l'eau.

Enfin, la **safranine** contre colore en rouge les "fausses" Gram-, on l'applique durant 30 secondes.

On rince bien la lame ainsi préparée, on la sèche avec du papier, puis avec la flamme.

On peut à présent observer les bactéries au microscope. A faible grossissement, on repère d'abord l'emplacement de la préparation, puis on ajoute quelques gouttes d'huile à immersion avant de passer à l'objectif x100.

## LA COLORATION « GRAM » (1)

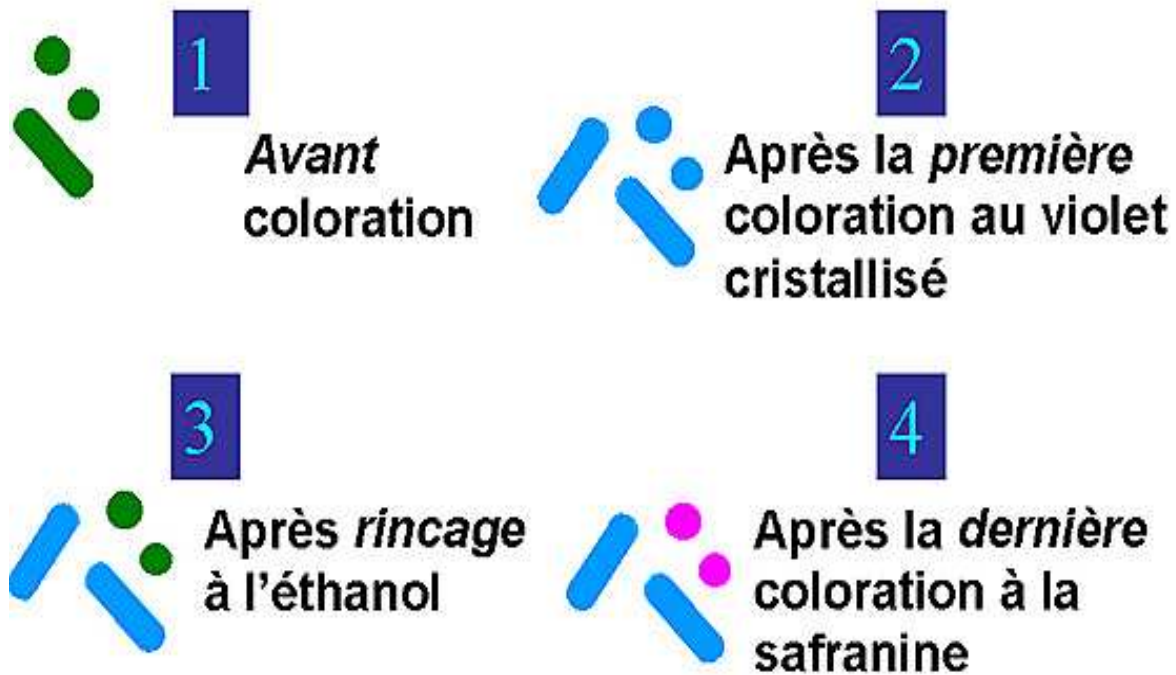


Figure 6 : Les différentes étapes de la coloration Gram.

## LA COLORATION « GRAM » (2)

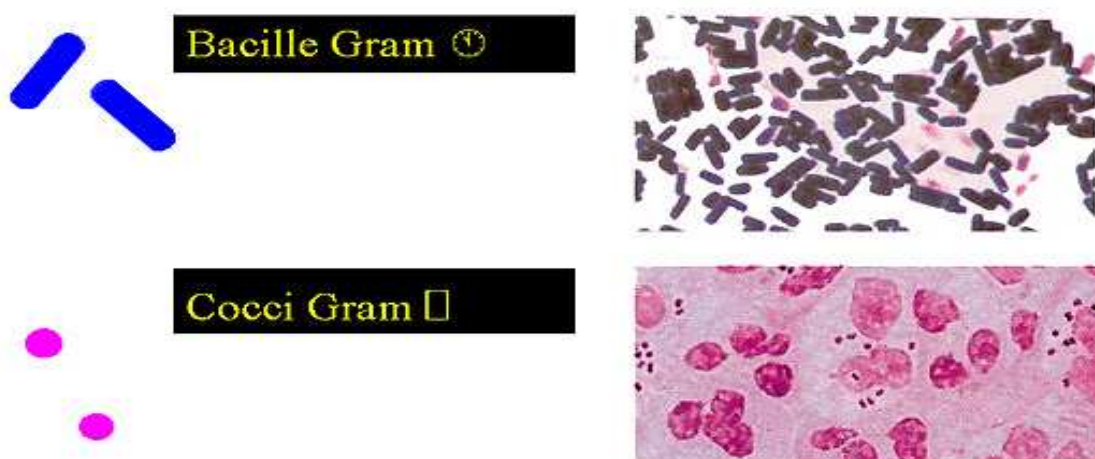


Figure 7 : Visualisation après coloration Gram.

## b. Observation des boues à la cellule de Thoma

La Cellule de Thoma :

Il s'agit d'une lame spécifique dont voici la schématisation :

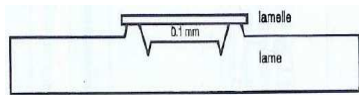


Figure 6 : Vue de profil

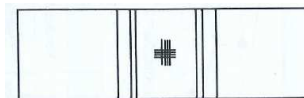


Figure 7 : Vue de dessus

Cellule de Thoma

La cellule de Thoma ( $0,1 \text{ mm}^3$ ) est formée de 16 grand carrés ( $0,004 \text{ mm}^3$ ), composés chacun de 16 petits carrés

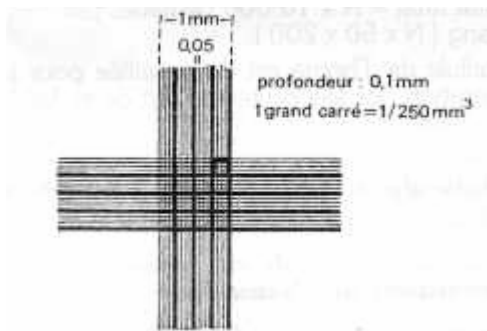


Figure 8 : Cellule de Thoma en entier.

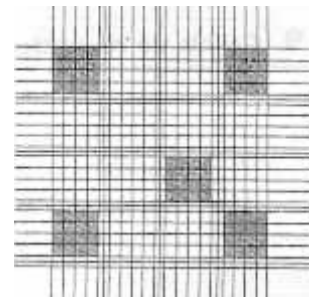


Figure 9 : Agrandissement de la cellule de Thoma

Le principe de ce comptage est le suivant : on compte tous les éléments situés à l'intérieur des lignes délimitant cette surface. Pour les éléments situés sur les lignes, on compte soit ceux qui sont sur la ligne de gauche et pas ceux qui sont sur la ligne de droite (soit l'inverse), et soit ceux qui sont sur la ligne du haut et pas ceux qui sont sur la ligne du bas (ou l'inverse).

Le but n'est pas de compter la totalité des micro-organismes sur l'intégralité de la cellule de Thoma, mais de les compter sur une surface dont il faut noter la valeur afin d'obtenir ensuite le nombre d'organismes par unité de volume.

Lors de notre séance, nous n'avons pas pu réaliser ce comptage. Nous avons simplement observé les organismes présents dans les boues de la station de Ginestous.



Nous avons observé quelques organismes différents. La présence de ciliés, fixés et libres, a été remarquée dans toutes les préparations, avec prédominance de *Péritriches Carchesium*. Ces espèces étaient majoritairement des organismes fixés, montrant que les boues étaient issues d'un procédé de faible ou de moyenne charge, et d'âge moyen.

Nos préparations étaient assez pauvres en micro-organismes, nous aurions du observer des rotifères, indicateurs d'une bonne aération, d'une épuration poussée et du fonctionnement stable du système.

## V. Discussion

La première remarque concerne les conditions d'utilisation du pilote. En effet, un débordement du réacteur la veille a engendré une perte importante de boues, leur âge est donc très faible.

Ensuite, concernant le réacteur, nous avons constaté une accumulation de boues dans le réacteur. Ce qui implique :

$$(\text{flux entrée} = Q_e X_e) > (\text{flux sortie} = Q_s X_s)$$

$$\text{car : } Q_e = Q_s$$

Concernant les MES, le taux d'efficacité du pilote n'est que de 40.7 %, ce qui peut également s'expliquer par le débordement du pilote.

Pour l'ammoniac, nous constatons des concentrations identiques pour le blanc, pour l'eau épuré, ainsi que pour l'étalon. Nous supposons un problème de manipulation, notamment avec le borate de soude (borax).

En ce qui concerne la DCO du KHP, nous constatons une augmentation importante par rapport aux années précédentes. Deux hypothèses sont mises en avant : la première concerne le sel de Mohr qui pourrait ne pas avoir été utilisé dans de bonnes conditions (erreur de concentration), dans ce cas tous nos résultats sont surestimés. La seconde met en doute l'efficacité du KHP (par exemple problème de date limite d'utilisation, de stockage...). Dans ce cas là les autres concentrations sont considérés comme valables, l'erreur ne provenant que du KHP.

L'épuration concernant le phosphore soluble se révèle très faible. L'efficacité du pilote est quasi nulle, ce qui signifie que l'on se retrouve avec une concentration identique à celle présente en entrée. Cependant, les résultats obtenus lors des travaux pratiques effectués par les autres groupes, ont montrés des rendements négatifs. Cette précision replace la valeur trouvée dans son contexte.

La valeur de la charge massique appliquée est très élevée. Cette forte concentration est due à des valeurs élevées de DBO obtenues.

L'âge des boues calculé est faible par rapport au système étudié. Cette durée est due au problème du débordement du pilote. Dans l'absolu, un âge de boues élevé est synonyme d'une bonne efficacité du système. Nous obtenons ici un âge des boues très faible ce qui ne garantit pas un système efficace. Cependant, on note toutefois une épuration de l'ordre de 50% sur la DCO. Les autres paramètres présentent en revanche des rendements plus faibles.

Dans le réservoir de l'Eau du Réseau Urbain, il devrait régner une température de 9°C, pour éviter le développement bactérien. Or lors de notre séance il faisait la température était de 20°C. Il y a donc augmentation de la biomasse dans le pilote.

L'incident provoqué la veille, à savoir le débordement du réacteur, engendre la production de boues très jeunes et stock de boues très faible à cause de l'incident de la veille.

## VI. Conclusion

A l'issue de cette étude, le pilote montre donc une efficacité maximale en ce qui concerne la D.C.O (  $E(\%)= 54.3\%$  ), ainsi qu'une efficacité relativement bonne en ce qui concerne les M.E.S (  $E(\%)= 40.7\%$  ) ; En revanche, l'efficacité de ce pilote est bien moins bonne en ce qui concerne l'azote ammoniacal et le phosphate : en effet, ce pilote expérimental ne dispose pas de dispositif d'élimination de l'azote (nitrification puis dénitrification) et du phosphore.

En ce qui concerne l'élimination de l'azote : la nitrification requiert un long temps de séjour de la biomasse bactérienne dans le réacteur. En théorie un âge des boues élevé correspond une charge massique faible, c'est à dire un faible apport de pollution à traiter par rapport à la masse de boues activées. Seules les stations d'épuration dimensionnées en faible charge ou en aération prolongée sont susceptibles de nitrifier. La dénitrification, quand à elle, confère à la boue une meilleure décantabilité ; ainsi, la mise en place d'un procédé de dénitrification aurait sans doute permis au pilote d'avoir une meilleure efficacité en termes de MES et de MVS.

En ce qui concerne l'élimination du phosphore, l'efficacité de notre pilote serait comparable à celle d'une station d'épuration biologique « classique », si celle-ci était comprise entre 18% et 30%, hors ici elle est de 2,8%. En station de traitement chimique, le traitement du phosphore par voie physico-chimique consiste à « piéger » le phosphore « dissous » sous forme particulaire. Ce changement de phase a lieu au contact de cations (ions calcium, magnésium ou ferriques) apportés soit par les eaux usées (précipitation naturelle), soit par ajout de réactifs à base de fer, d'aluminium ou de chaux (précipitation forcée).

L'ajout des différents procédés énoncés ci-dessus, permettrait d'augmenter l'efficacité de notre pilote.