

Automatisation et comparaison de différentes méthodes respirométriques d'estimation rapide de la DBO

Automation and comparison of different respirometric methods to estimate BOD

J.L. VASEL¹, P. WARNIER², H. JUPSIN², P. SCHROBILTGEN¹

Reçu le 7 juin 1990, accepté pour publication le 23 avril 1991*.

RÉSUMÉ

Il est bien connu que la DBO peut être mesurée par des méthodes respirométriques. Les manipulations sont ainsi rendues plus aisées mais la durée de la mesure reste inchangée. La demande biologique en oxygène à court terme (DBOACT) a été proposée pour évaluer rapidement la DBO. Habituellement, ces mesures étaient réalisées dans un respiromètre fermé avec une boue acclimatée et en état de respiration endogène. Récemment on a suggéré de travailler avec un respiromètre ouvert, aéré continuellement durant le test. Nous avons réalisé un tel appareil avec une acquisition et un traitement automatique des données, en utilisant un micro-ordinateur. De cette façon, il est facile de tester différentes méthodes (Intégration de la courbe en sac, hauteur de pic, comparaison à des étalons, usage d'étalons internes) pour évaluer la DBO. Nous avons également examiné l'influence du type de substrat, de l'âge et des caractéristiques des boues. Notre conclusion est que aucune des méthodes testées ne fournit une détermination précise de la DBO₅ pour des substrats complexes. La méthode reste utile pour contrôler la variabilité de l'influent dans une station d'épuration, lorsque la biomasse est acclimatée au substrat et qu'on ne désire pas une mesure très précise.

Mots clés : DBO, méthodes respirométriques, DBO à court terme.

SUMMARY

The usual way of measuring BOD is the dilution method. The consumption of oxygen is measured in the dark at 20 °C during 5 days. Manometric methods were proposed already some decades ago. Their principle is that every molecule of oxygen consumed is transformed into CO₂ which is absorbed in a

1. Fondation Universitaire Luxembourgeoise, 185, Avenue de Longwy, 6700 Arlon.
2. ISIC, 18, avenue de l'Hôpital, 7000 Mons.

** Les commentaires seront reçus jusqu'au 30 mars 1992.

solution of KOH, creating a pressure variation in the bottle. From this pressure variation the BOD can be calculated. By this way experiments were made easier but the duration of the measure remained unchanged. Other respirometric methods were also proposed, especially Short Term Biological Oxygen Demand (STBOD) to evaluate BOD rapidly. Usually such determinations were done in closed respirometers with acclimated sludge under endogeneous respiration condition. Recently, it was suggested to proceed in an open respirometer aerated continuously during the test. We set up this type of respirometer with acquisition and automatic processing of the data, using a microcomputer. In this way it was easy to test different procedures. Among these procedures we tested :

- the method of integration of curve in sack-form,
- the method of peak level,
- the method of comparison to standards,
- the method of internal standards.

The principles of these methods are given in more detail in the text. We examined the influence of the type of substrate, of the type of biomass used and of the sludge retention time on the results. The substrates tested were :

- glucose,
- domestic waste water with and without detergent,
- diluted eggs,
- diluted beer,
- effluents from the paper industry.

Three different types of biomass and three sludge retention times (fresh, 5 days and 20 days) were used. Automatisation of the test and automatic processing of the data were carried out in basic language with an « Apple II » microcomputer.

The test lasted between 37' and 3 hours 10', depending on the conditions (substrate, concentration, type of sludge,...)

Analysis of the results were computerized by the Analysis of Variance (ANOVA) method and results are listed in 3 tables.

From this study we can conclude that STOD methods have some advantages :

- they are much faster than the classical method,
- they can be easily automatized,
- they are cheap,
- oxygen is really consumed by biological processes.

For simple substrates these methods can lead to good results but for complex substrates reproductibility and precision are rather poor. Among the methods tested the only acceptable one seems to be the integration of the curve in sack-form. Lack of reproductibility appears to be intrinsic to the method.

Some possible improvements are presented, such as washing the activated sludge between two experiments, but are not very practical.

Despite these limitations the method can be useful to control the variability of influent in a sewage treatment plant. In such a case, the biomass is acclimated to the substrate and variations of influent BOD can be measured.

Key-words : BOD, respirometric methods, STBOD.

NOTATION

B	: Concentration en biomasse (g/l)
C	: Concentration en oxygène (mg O ₂ /l)
C _s *	: Concentration en oxygène à saturation dans la liqueur mixte (mg O ₂ /l).
C ₀	: Concentration initiale en oxygène (mg O ₂ /l).
DBO	: Demande biochimique en oxygène (mg O ₂ /l).
DO	: Demande en oxygène (mg O ₂ /l).
k _{la}	: Vitesse de transfert de l'oxygène dans la liqueur mixte (sec ⁻¹).
R	: Vitesse de respiration (mg O ₂ /l.min)
S	: Surface de la courbe en sac pour l'échantillon à doser (mg O ₂ /l.sec).
S _k	: Surface de la courbe en sac pour le substrat de calibration (Farkas, 1981) (mg O ₂ /l.sec).
S _s	: Surface de la courbe en sac pour l'échantillon à doser (Farkas, 1981) (mg O ₂ /l.sec).
DBOACT	: Demande biochimique en oxygène à court terme (mg O ₂ /l).
t	: Temps (secondes).
V _k	: Volume de substrat de calibration injecté (ml).
V _s	: Volume de substrat à tester injecté (ml).
X	: Concentration en substrat (mg/l)
α	: Coefficient de correction du transfert en eau usée.

1 - INTRODUCTION

La mesure de la DBO₅ par la méthode des dilutions donne généralement lieu à bien des insatisfactions et n'est pas parfaitement adaptée aux différentes situations où on est amené à l'utiliser : dimensionnement de nouvelles installations, essais de traitabilité, contrôle des installations de traitement, détermination des critères de décharge, étude de l'impact sur le milieu récepteur, etc.

Les inconvénients de la méthode sont cependant bien connus (MONTGOMERY, 1967) : manipulations assez fastidieuses, surtout si l'on veut obtenir des valeurs au-delà de cinq jours, conditions de l'essai généralement fort éloignées des conditions de croissance rencontrées dans la réalité, auxquelles il faut ajouter, bien entendu, la durée, l'imprécision et le manque

de reproductibilité de la mesure, ainsi que le peu de fondements théoriques de la méthode. Son utilité est d'ailleurs nulle en tant que variable de contrôle des dispositifs d'épuration (ROQUES, 1979).

On comprend dès lors que bien des auteurs ont proposé des équipements destinés à remplacer celle-ci par une technique respirométrique. MONTGOMERY (1967) a réalisé une synthèse bibliographique relative à cette question. Parmi les nombreux dispositifs qui ont été proposés à cet effet, beaucoup sont dérivés du respiromètre de Warburg. Il semble qu'à présent ce sont les appareils commercialisés par HACH CHEMICAL COMPANY (respiromètre manométrique à volume constant) et par VOITH (Sapromat, respiromètre électrochimique), ainsi que les appareils qui en dérivent, qui sont les plus répandus. Ces appareils sont généralement d'un usage plus commode que la technique des dilutions, bien que celle-ci se soit déjà simplifiée suite à l'usage des sondes de mesure de l'oxygène dissous (sondes de CLARK). De plus, les appareils manométriques permettent de relever assez aisément la courbe de la demande en oxygène en fonction du temps alors que l'établissement de cette dernière par la méthode des dilutions exige un surcroît de travail considérable. Cependant, si les manipulations sont simplifiées, la durée de la mesure reste inchangée, et cette technique, pas plus que la précédente, n'offre d'intérêt en tant que variable de contrôle du processus. Notons par ailleurs que la mesure de la DBO par la méthode des dilutions est bien souvent la seule méthode normalisée dans divers pays. LEBLANC (1974), dans un article de synthèse, avait présenté les différentes possibilités d'aboutir à une estimation rapide de la DBO₅. Parmi celles-ci, on peut citer l'augmentation de la température, l'utilisation d'inoculum de cultures pures et les techniques respirométriques. Les deux premières méthodes restent fort empiriques dans leurs mises en œuvre, les résultats deviennent alors particulièrement sensibles aux conditions expérimentales (ROQUES, 1979). Nous n'aborderons pas ici l'estimation de la DBO à partir de corrélations obtenues avec des mesures chimiques (DCO, COT,...).

Divers auteurs ont suggéré d'employer les techniques respirométriques sur une durée plus courte pour pallier les inconvénients précités. VERNIMMEN *et al.* (1967), en utilisant un respiromètre mis au point à l'Université de Caroline du Nord (LAMB *et al.*, 1964) avaient proposé l'utilisation de la STOD (Short Term Oxygen Demand). Le respiromètre utilisé comportait un agitateur magnétique et une sonde à oxygène dissous et était rempli avec une suspension de boues activées préalablement rincées. La vitesse de respiration était mesurée au moyen d'un enregistreur graphique, on s'assurait ainsi de la valeur quasi constante de la vitesse de respiration endogène. On réaérait ensuite le milieu avant d'injecter, au moyen d'une seringue hypodermique, l'échantillon à analyser. Le test se termine lorsque la vitesse de respiration est revenue à la valeur initiale (respiration endogène constante). Eventuellement, on peut procéder à une réaération du milieu en cours d'essai. Les résultats sont assez satisfaisants lorsqu'on utilise un substrat pur, ce qui est assez normal puisqu'on se rapproche alors des conditions d'une culture pure.

ARTHUR et HURSTA (1968) utilisaient, quant à eux, un respiromètre fermé également, mais avec un enregistrement manométrique, et proposaient aussi de corrélater la DBO₅ classique à la demande en oxygène correspondant à la seule phase de croissance.

BLOK (1974) a imaginé un respiromètre ouvert et a montré comment les respirogrammes relevés pouvaient être utilisés pour estimer la DBO, mais aussi la toxicité, etc. Plus tard (1976), il a montré comment l'appareil pouvait être utilisé pour déterminer la biomasse vivante. L'avantage du respiromètre ouvert est de pouvoir travailler avec une concentration plus importante en boues, et donc un temps plus court, le milieu étant aéré continuellement.

FARKAS (1981), a repris l'idée du respiromètre ouvert, mais cette fois il compare le respirogramme obtenu à un standard de référence, en supposant que le coefficient de transfert de l'oxygène (k_{la}) n'est pas modifié entre les deux essais. Plus récemment, SUSCHKA et FERREIRA (1986) ont repris une approche identique à BLOK, mais cette fois la DBO_5 est calculée directement à partir du respirogramme, moyennant une conversion théorique de la biomasse synthétisée. Cependant, si les auteurs donnent le principe de la méthode, ils ne fournissent malheureusement que deux exemples. En général, ces méthodes apparaissent séduisantes et il semble que des appareils basés sur ces techniques ou sur des principes similaires soient proposés sur le marché.

Nous avons donc voulu vérifier le bien fondé de ces méthodes en testant différentes variantes du procédé. Nous aborderons la possibilité d'informatisation de la mesure, puis nous examinerons si les résultats fournis sont sensibles au type de substrat testé, s'ils dépendent du type et de l'âge des boues utilisées, notamment. En effet, outre l'intérêt évident d'une méthode de détermination rapide de la DBO, les mesures respirométriques s'avèrent également très utiles pour quantifier la biomasse vivante (BLOK, 1976 ; HUANG *et al.*, 1985) et peuvent fournir des indications particulièrement précieuses à la bonne gestion des stations d'épuration (HUANG et CHENG, 1984). Notons à ce propos que EDELIN *et al.* (1978) ont proposé un respiromètre très simple où la respiration est calculée comme une différence de teneur en oxygène dissous lorsque l'échantillon s'écoule dans un tuyau mince (écoulement piston). Les auteurs montrent en outre comment l'appareil peut être utilisé pour déterminer les coefficients respiratoires exogène et endogène.

La détermination de l'activité de la biomasse reste un sujet de préoccupation constant si on vise à une meilleure compréhension des processus (OLAH et PRINCZ, 1986).

2 - PRINCIPE DES MÉTHODES TESTÉES

2.1 Méthode de Suschka et Ferreira

La méthode de SUSCHKA et FERREIRA (1986), conduisant à l'estimation de la DBO_5 sur une période de 3 à 4 heures, comporte deux parties : un essai de réaération et un essai de respiration des boues.

En partant d'une concentration faible en oxygène, on procède à une réaération des boues par injection d'air en continu à un débit déterminé et

constant. La concentration en oxygène tend vers une valeur limite C_s^* , obtenue théoriquement après un temps infini (*partie I* de la *figure 1*) et dépendant du débit utilisé, du type de boue, du type de substrat, de la température, de la nature de la solution.

L'équation mathématique de l'évolution de la teneur en oxygène dissous exprime que le transfert est proportionnel au gradient en oxygène :

$$\frac{dC}{dt} = kla (C_s^* - C) \quad (1)$$

avec :

C = concentration en oxygène

C_s^* = concentration en oxygène à saturation

soit :

$$\frac{dC}{C_s^* - C} = kla dt \quad (2)$$

Si C_0 représente la concentration initiale en oxygène ($t = 0$) en mgO_2/l , nous aurons par intégration :

$$\ln \frac{C_s^* - C}{C_s^* - C_0} = -kla t \quad (3)$$

souvent présenté sous la forme :

$$C = C_s^* - (C_s^* - C_0) \exp(-kla t) \quad (4)$$

Il est toutefois conseillé que la concentration initiale C_0 ne soit pas inférieure à 1,5-2 mg/l pour éviter de créer des zones anoxiques.

Cet essai permet de déterminer la valeur de kla , nécessaire à l'estimation de la DBO_5 , par régression semi-logarithmique. L'exploitation de l'équation (3) conduit à :

$$\ln (C_s^* - C) = -kla t + \ln (C_s^* - C_0) \quad (5)$$

En portant en graphique le logarithme népérien du déficit en oxygène en fonction du temps, nous obtenons une droite dont la pente en valeur absolue est égale au coefficient de transfert de l'oxygène dans les boues.

L'essai de respiration, quant à lui, consiste à injecter une quantité connue d'un substrat déterminé, tout en maintenant en continu l'aération du système (*partie II* de la *figure 1*).

Lorsque les microorganismes sont en respiration endogène et que l'oxygène dissous est suffisant, l'injection du substrat entraînera, de par sa biodégradation, une activité accrue des microorganismes présents dans les boues, qui vont consommer de l'oxygène. La concentration de ce dernier va donc diminuer (*partie AB* de la courbe). Au fur et à mesure de sa dégradation, la concentration en substrat va diminuer, et par conséquent également la consommation d'oxygène pour dégrader le substrat frais restant.

Puisque l'aération du milieu est permanente, nous assisterons progressivement à une remontée de la concentration en oxygène jusqu'à la valeur à saturation, ce qui correspond à la partie BC de la courbe.

L'évolution de la concentration en oxygène en fonction du temps se traduit ainsi graphiquement par une courbe analogue à la « courbe en sac » obtenue en rivière à l'aval d'un rejet polluant. Dans ce dernier cas, l'échelle des abscisses peut indistinctement être prise comme la distance à l'aval du rejet, ou comme le temps de parcours du liquide.

La surface entre cette courbe et l'asymptote horizontale $C = C_s^*$ est corrélée à la DBO_5 . Cependant, l'essai se déroulant sur une période de temps finie, alors que l'atteinte de la saturation s'effectue après un temps infini, une erreur par défaut est commise sur la détermination de la surface. Pour y remédier, dans notre cas, la valeur maximum observée + 0,05 (en mg/l) a été généralement choisie comme valeur de C_s^* .

Les équations de corrélation proposées par SUSCHKA et FERREIRA (1986) sont :

$$DO = S \text{ kla} \tag{6}$$

Et, en prenant un facteur de conversion théorique de la biomasse en oxygène (1,42 mg O_2 /mg MVS), puis en adoptant des valeurs classiques pour le facteur Y de taux de conversion de substrat en biomasse (0,48 g MVS/g DBO) et pour le ratio DBO ultime/ DBO_5 (1,42), ils proposent finalement la relation suivante :

$$\begin{aligned} DO &= (1 - 1,42 Y) \cdot DBO \text{ ultime} \\ DO &= (1 - 1,42 \times 0,48) \cdot 1,42 \cdot DBO_5 \\ DO &= 0,45 DBO_5 \end{aligned} \tag{7}$$

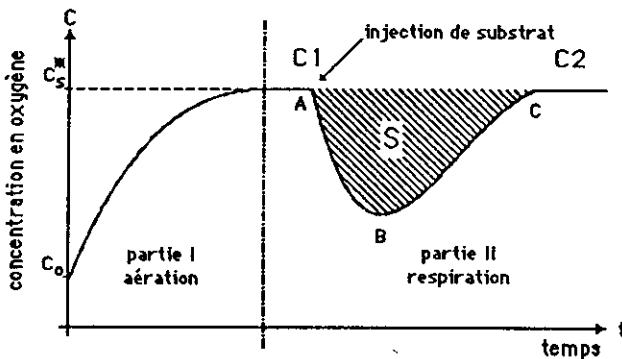


Figure 1 Principe de la méthode de SUSCHKA et FERREIRA.
Principle of SUSCHKA and FERREIRA'S method.

SUSCHKA et FERREIRA (1986) ont proposé une variante de leur méthode basée sur la variation de la vitesse de consommation en oxygène.

Si durant l'essai, on calcule à différents temps la vitesse de consommation en oxygène (R) et qu'on la porte en graphique en fonction du temps, on obtient une courbe schématisée à la figure 2.

Ils constatent ainsi que la fin de cette courbe est quasiment linéaire. En extrapolant la droite vers la première partie de la courbe et en intégrant la partie de celle-ci située au-dessus de cette droite, on obtient une valeur dont les unités sont celles d'une demande en oxygène (D.O.). Il devrait donc être possible de tirer la DBO_5 de cette surface.

Ce raisonnement peut se justifier de la manière suivante : la consommation en oxygène est composée de deux termes, l'un correspondant à la respiration du substrat, l'autre étant lié à la respiration endogène de la biomasse.

On écrira par exemple :

$$\frac{dC}{dt} = \frac{dX}{dt} - \beta B \quad (8)$$

avec :

X = concentration en substrat (g/l)

B = concentration en biomasse (g/l).

Si le substrat est entièrement consommé, alors $dX/dt = 0$ et la vitesse de respiration sera liée à la quantité de biomasse. Sur une période de temps suffisamment courte, l'évolution de cette dernière peut être considérée comme linéaire.

Dans notre cas, le calcul de « R » se réalise comme suit :

$$\frac{dC}{dt} = k_l a (C_s^* - C) - R \quad (9)$$

donc :

$$R = k_l a (C_s^* - C) - \frac{dC}{dt} \quad (10)$$

et

$$R = k_l a (C_s^* - C) - \frac{\Delta C}{\Delta t} \quad (11)$$

Il est aisé de montrer que cette façon de procéder est théoriquement équivalente à la détermination de la surface de la courbe en sac (fig. 1). En effet, si nous intégrons l'équation (9) entre les valeurs C_1 et C_2 indiquées sur la figure 1, nous obtenons :

$$\int_{C_1}^{C_2} \frac{dC}{dt} dt = \int kla (C_s - C) dt - \int R dt \quad (12)$$

$$C_1 - C_2 = kla S - \int R dt \quad (13)$$

$$\int R dt = kla S \quad (14)$$

On voit donc que les deux méthodes devraient être équivalentes. La figure 2 a d'ailleurs été obtenue par calcul (équation 11) à partir de l'enregistrement de la teneur en oxygène dissous. La méthode d'intégration de la courbe en sac est cependant préférable à la détermination de l'évolution de la respiration par des mesures ponctuelles, car elle évite de prélever des échantillons dans le pilote pour mesurer la vitesse de respiration. Cette dernière mesure est d'ailleurs malaisée à effectuer durant la phase initiale car il faut préalablement réaérer le liquide, et il est donc difficile d'obtenir les premiers points de la courbe.

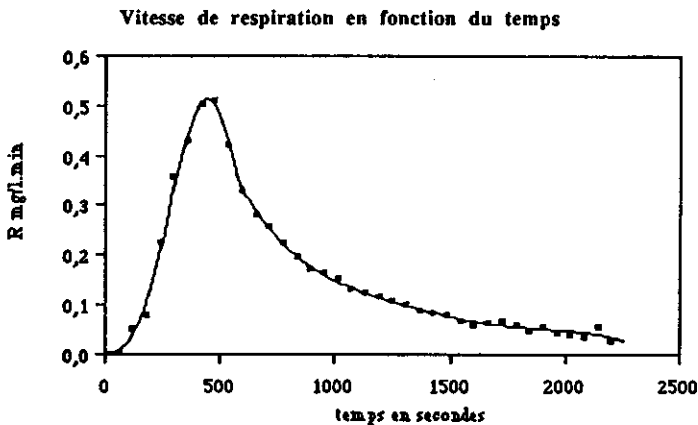


Figure 2 Variante proposée par SUSCHKA et FERREIRA.
Variant proposed by SUSCHKA and FERREIRA.

2.2 Méthode de la hauteur de pic

Cette méthode consiste à corréler l'estimation de la DBO_5 non plus à la surface mais à la hauteur du pic. En effet, EDELIN (1983), par exemple, a montré que pour une rivière, la hauteur du pic est proportionnelle à la charge. En suivant un raisonnement analogue, on peut examiner la corrélation entre la hauteur du pic et la valeur de la DBO_5 .

Cette variante possède l'avantage d'être beaucoup plus simple dans sa mise en œuvre et moins onéreuse puisqu'un appareillage informatisé n'est pas nécessaire ; on peut se contenter d'un enregistreur graphique et d'un oxy-

génomètre. Il suffit alors de mesurer la « hauteur » du pic, c'est-à-dire la différence entre la concentration en oxygène à saturation et la concentration minimum relevée lors de l'essai (déficit critique) et de la comparer à la hauteur du pic obtenue pour un substrat de calibration. Nous verrons cependant que cette méthode peut poser des problèmes.

2.3 Méthode de Farkas

Cette méthode consiste à estimer la DBO à court terme (DBOACT) par comparaison à la valeur obtenue pour un substrat de calibration, de DBO parfaitement connue. La formule de base utilisée est :

$$\text{DBOACT} = \text{kla S}$$

FARKAS (1981) ne procède pas à la détermination du kla, mais formule l'hypothèse que cette valeur reste constante dans la mesure où la géométrie du réacteur, le système d'oxygénation, le débit d'air et la concentration des boues restent constants. Cela signifierait notamment que le coefficient α de correction du transfert (eau propre \rightarrow eau usée) demeure identique entre deux essais, ce qui n'est pas nécessairement exact (VASEL, 1988). Pour ce faire, il ajoute également, sur le même système, un volume connu V_k d'un substrat de calibration de demande DBOACT_k connue (figure 3). L'obtention d'une aire S_k permettra de déterminer la DBOACT de l'échantillon :

$$\text{DBOACT} = \text{DBOACT}_k \frac{V_k S_s}{V_s S_k} \quad (15)$$

Par la suite, on peut établir et utiliser une régression entre la DBO₅ et la DBOACT. Pour des eaux domestiques, l'auteur a obtenu :

$$\text{DBO}_5 = 0,96 \text{ DBOACT} + 9,04 \quad (16)$$

Notons que le coefficient de régression de FARKAS est moins de la moitié de celui de SUSCHKA et FERRIERA (équation 7).

Pour utiliser cette méthode, il faut procéder à deux injections, une pour le substrat inconnu, et une pour le substrat de référence, ce qui allonge la durée de l'essai.

2.4 Méthode des ajouts dosés

Nous avons imaginé une variante à la méthode de FARKAS (1981). Lors de la deuxième injection, nous ajoutons un volume égal de substrat à doser, plus une quantité connue de substrat de calibration (glucose). La différence entre le deuxième pic (substrat + glucose) et le premier (substrat seul) nous donne la surface engendrée par le glucose, ce qui nous permet d'estimer la DBO du substrat inconnu par la technique des ajouts dosés.

Nous pensons que cette manière de procéder permet d'avoir des conditions plus semblables entre les deux essais.

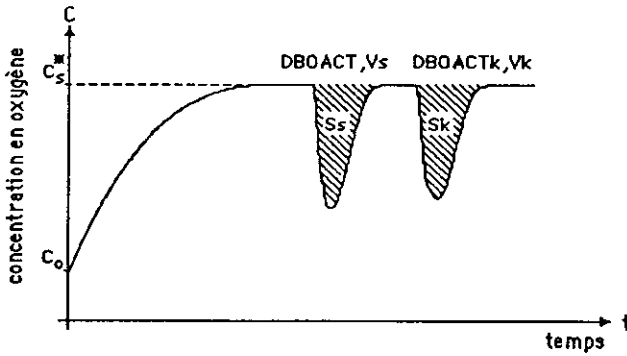


Figure 3 Principe de la méthode de Farkas.
Principle of Farka's method.

3 - MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1 Installation d'essai

Le dispositif expérimental utilisé est schématisé par la figure 4.

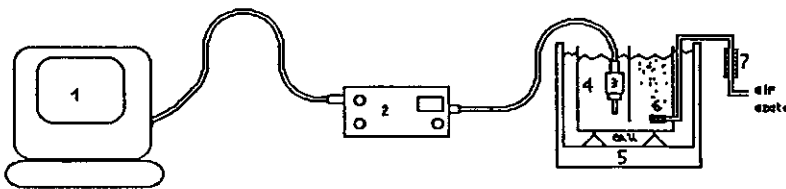


Figure 4 Dispositif expérimental.
Experimental Pilot

- 1 - Microordinateur et carte de digitalisation
- 2 - Oxygénomètre
- 3 - Sonde à oxygène et température
- 4 - Pilote de laboratoire
- 5 - Cuve thermostatique
- 6 - Bulleur
- 7 - Débitmètre

- 1 - Micro computer and AD converter
- 2 - Oxygen meter
- 3 - Oxygen and temperature probe
- 4 - Experimental pilot
- 5 - Thermostatic bath
- 6 - Bubbler
- 7 - Flow meter

Les échantillons de boues activées prélevés dans différentes stations sont introduits dans des pilotes identiques de laboratoire d'une contenance d'environ 3 200 ml (pour toutes les manipulations, nous avons adopté un volume constant de 3 100 ml).

En vue d'assurer la constance de la température dans chaque pilote au cours des essais, on le place dans une cuve thermostatique contenant de l'eau à une température stabilisée. Pendant toute la période des essais, la température a été comprise entre 19 et 23 °C.

On augmente la concentration en oxygène dissous dans le milieu par bullage d'air ; on peut également réduire la concentration en oxygène par bullage d'azote ou ajout de sulfite de sodium.

La sélection air/azote se réalise au moyen d'une vanne à 3 voies. La constance du débit est obtenue grâce à un débitmètre Brooks de type Sho-rate model 1355. Pour toute la série d'essais, le débit a été fixé à 0,75 l/min.

L'oxygénomètre est de marque Orbisphère, la sonde est immergée dans le pilote et permet la mesure de la concentration en oxygène et de la température.

La carte d'acquisition de données (Data Acquisition System Burr Brown SDM 857 KG) reçoit en permanence les 2 signaux (O₂ et t°).

Les signaux électriques lus par la carte d'acquisition de données sont convertis en concentration en oxygène et en température, et sont stockés en fichiers sur le microordinateur (Apple II). Le début et la fin de la manipulation sont commandés manuellement à l'aide de l'interrupteur On/Off relié au game paddle du microordinateur.

3.2 Réalisation des mesures

Comme méthode de référence pour cette étude sur la détermination de la DBO₅, nous avons utilisé deux méthodes habituelles :

a) *La méthode normalisée* (par dilutions), telle que décrite dans le « Standard Methods » (1985), l'oxygène dissous étant mesuré au moyen d'une sonde de type Clark (Orbisphère 2603).

Certains échantillons ne contiennent pas suffisamment de microorganismes pour initier l'activité biologique, il a donc été nécessaire de les ensemençer. La DBO de l'échantillon étant, dans ce cas-ci, obtenue par la formule suivante :

$$\text{DBO échantillon} = \frac{(\text{DBO observée}) - (\text{Fraction ensemençement} \times \text{DBO ensemençement})}{\text{Fraction échantillon}}$$

L'ensemencement a été réalisé au moyen d'un effluent domestique et la fraction ensemençée a toujours été de 10 % en volume.

Pour plus de renseignements sur les modèles cinétiques de la DBO ainsi que sur les aspects méthodologiques de la mesure, le lecteur peut se rapporter à ROQUES (1979).

b) *La méthode manométrique*

Le principe de la mesure peut être schématisé de la manière suivante. La matière organique est oxydée en produisant du dioxyde de carbone qui est absorbé par une pastille de KOH placée dans une nacelle sous le bouchon du flacon. La chute de pression correspondante est relevée par un manomètre à mercure. La mesure de la dépression peut ainsi conduire théoriquement à la quantité d'oxygène consommé. Pour nos essais, nous avons suivi la procédure indiquée dans le manuel Hach (1980).

3.3 Substrats et biomasse

Pour réaliser les essais, nous avons utilisé sept substrats et trois boues différents. Cette combinaison nous a permis d'examiner l'influence des boues sur les résultats obtenus.

3.3.1 Biomasse

La biomasse utilisée provient de différentes stations d'épuration communales ou industrielles. La prise de ces boues a été faite dans le bassin d'aération. Elles étaient conservées au laboratoire, aérées continuellement, et alimentées quotidiennement avec de la poudre de lait. Pour préciser l'influence de l'âge des boues, nous avons utilisé deux pilotes différents, aérés continuellement et alimentés quotidiennement avec de la poudre de lait. Nous avons prélevé chaque jour, respectivement un cinquième et un vingtième du volume de boues jusqu'à stabilisation, ce qui nous a donné des boues de cinq jours et de vingt jours.

a) *Boues n° 1 (B1)*

Ces boues proviennent de la station de la ville d'Arion (30 000 E.H.), qui épure les eaux essentiellement d'origine domestique de la ville dans une station à boues activées à moyenne charge.

b) *Boues n° 2 (B2)*

Ces boues traitent les effluents d'une fabrique de pâte à papier (400 000 E.H.) et sont donc plus caractéristiques de boues traitant des effluents industriels.

c) *Boues n° 3 (B3)*

Il s'agit de boues traitant des effluents d'une laiterie (25 000 E.H.), elles sont caractéristiques d'effluents agro-alimentaires.

3.3.2 Substrats

Afin d'examiner l'applicabilité pratique des méthodes, nous avons voulu tester des substrats d'origines très diverses. Les substrats « naturels » ont été prélevés à l'entrée des stations (après le dégrillage). Cependant, pour des

raisons de facilité, mais aussi pour garantir la qualité constante des effluents entre différents essais, certains d'entre eux ont été constitués artificiellement.

C'est ainsi que l'effluent de brasserie a été constitué en diluant de la bière et celui de transformation d'œufs en diluant des œufs, tandis que pour simuler un effluent de laiterie, nous avons directement utilisé de la poudre de lait.

Les substrats S2 et S7 ont été conservés dans un endroit sec à température ambiante, tandis que le substrat S6 a été congelé en raison de sa moins bonne stabilité. Les autres substrats ont été stockés à une température inférieure à 4 degrés centigrades.

- a) Substrat n° 1 (S1) : effluent domestique dégrillé
- b) Substrat n° 2 (S2) : poudre de lait
- c) Substrat n° 3 (S3) : effluent domestique + détergent (1 ml détergent/litre d'effluent)
- d) Substrat n° 4 (S4) : effluent d'une fabrique de pâte à papier
- e) Substrat n° 5 (S5) : bière diluée (20 fois)
- f) Substrat n° 6 (S6) : œufs dilués (100 fois)
- g) Substrat n° 7 (S7) : glucose.

La raison du choix du substrat n° 7 est que le glucose est un composé dont les propriétés sont bien connues. Le but est d'en faire notre substrat de référence.

3.4 Informatisation

Afin de faciliter et d'accroître la rapidité des méthodes utilisées, nous avons informatisé le suivi des expériences par une série de programmes réalisés en langage Basic. Les buts des programmes sont multiples : ils permettent de se passer d'enregistreur graphique par l'emploi d'une carte d'acquisition de données connectée à l'oxygénomètre et permettant la prise automatique des mesures de la concentration en oxygène et de la température, à une fréquence préalablement choisie par l'utilisateur. Le début et la fin de la prise des mesures sont commandés par l'utilisateur par l'emploi d'un interrupteur On/Off connecté au microordinateur. De nombreux menus et sous-menus laissent de grandes possibilités de choix à l'utilisateur ainsi qu'une utilisation souple et aisée des différents traitements proposés.

La durée des essais est de l'ordre d'un quart d'heure pour déterminer K_1 et le relevé de la courbe en sac a pris un temps compris entre 37 minutes et 3 heures 10 minutes, suivant le cas.

La durée des traitements est de l'ordre de 5 secondes pour l'essai de réaération et de 20 secondes pour l'essai de respiration.

Pour plus de renseignements sur les programmes, on se reportera aux travaux de WARNIER (1988) et JUPSIN (1989).

4 - RÉSULTATS ET COMMENTAIRES

4.1 Traitements des résultats

En combinant les variables substrats, biomasses, ainsi que les quantités injectées, nous avons effectué un total de 113 essais de respiration. Pour interpréter ces différents essais, nous avons utilisé l'analyse de la variance (analyse de variance à un ou deux critères de classification : modèles croisés - effets fixes). Cette technique est détaillée dans l'ouvrage de DAGNELIE (1984). Les conclusions de l'analyse sont données en utilisant les conventions habituelles, à savoir, on convient de marquer respectivement d'un, deux et trois astérisques les valeurs significatives au niveau 5 %, 1 % et 0,1 % de la variable F de Snédecor et d'indiquer NS pour les valeurs non significatives.

4.2 Méthodes de référence

En premier lieu, nous avons comparé les deux méthodes classiques (dilutions et manométrique) en les essayant sur nos substrats : 2 essais ont été réalisés à chaque détermination.

Les résultats sont donnés dans le *tableau 1* ainsi que les résultats de l'analyse de variance.

Tableau 1 Comparaison des méthodes de référence de DBO en mg/l.

Table 1 Comparison of the BOD's reference methods in mg/l.

Substrat	Manométrique 1	Manométrique 2	Dilution 1	Dilution 2
S1	80	120	159	157
S3	318	209	206	229
S7	303	214	426	427
S2	302	302	422	423
S4	355	265	382	369
S5	296	275	409	410
S6	453	408	7 930	7 930
S1*	185	260	240	294
S3*	130	250	376	432
S1* et S3* étant des essais réalisés avec les mêmes genres de substrat que S1 et S3 mais de concentrations différentes.				
Analyse de la variance				
Source de variation	Degré de liberté	Σ des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Substrats	8	54 035 533	675 443	4139 ***
Méthodes	1	7 558 834	7 558 834	4632 ***
Interaction S.M.	8	48 799 333	6 099 917	3738 ***
Variation résid.	18	29 375	1 632	
TOTAUX	35	110 423 075		

Cette analyse montre clairement que les deux méthodes ne sont pas équivalentes et ceci de manière très significative (seuil de probabilité 99,9 %). Le tableau montre également que les substrats sont différents, ce que nous savions déjà, mais surtout que les différences entre les deux méthodes dépendent du type de substrat testé. Même si nous ne tenons pas compte du résultat de S6, qui n'a jamais donné de réponse plus importante avec la méthode manométrique, la précision de notre conclusion reste supérieure à 99,9 %.

Dans ce dernier cas, une explication est que le fait de provoquer la sortie du CO₂ métabolique en le fixant sur du KOH peut, lorsque la DBO est élevée, faire monter le pH à des valeurs inhibant et retardant la biodégradation. (WOLTERS *et al.*, 1976, EDELIN, 1991).

4.3 Méthodes utilisées

4.3.1 Méthode basée sur la hauteur de pic

La méthode de mesure utilisant la hauteur de pic n'est pas recommandable ; en effet même l'établissement d'une droite de calibration pose déjà des problèmes. En utilisant le glucose comme substrat de calibration, nous n'avons obtenu de droites « acceptables » que dans deux cas.

Mais, même alors, on constate que la valeur élevée de l'ordonnée à l'origine rend la méthode très peu précise. De plus les expériences indiquent, que suivant les substrats, la forme de la courbe en sac peut être très différente ; allant d'un pic très prononcé à une forme presque rectangulaire, avec dans certains cas deux pics différents bien marqués. La comparaison à un standard de forme trop différente peut donc s'avérer délicate.

4.3.2 Méthode des ajouts dosés

Cette expérience a été conduite sur la biomasse B3 avec le substrat S3 et le glucose comme « standard interne ». Quatre essais ont été réalisés :

A : injection de 0,1 g de glucose

B : injection de 62 ml de substrat S3

C : injection de 62 ml de substrat S3 + 0,05 g de glucose

D : injection de 62 ml de substrat S3 + 0,1 g de glucose

Les calculs effectués sur les résultats des expériences B, C et D permettent d'établir une corrélation :

$$DO \text{ (mg)} = 0,785 + 33,98x$$

$$r^2 = 0,99$$

ou, en calculant la DBO dans le réacteur par la formule (7) et en ramenant à la DBO de la solution injectée :

$$DBO \text{ du mélange injecté} = 87,2 + 233x$$

où x est la quantité de glucose injectée (g).

La valeur de l'ordonnée à l'origine donne une DBO de 87,2 alors que le même substrat, avec la même boue, avait fourni une valeur moyenne de 197 mg O₂/l par la méthode de la courbe en sac, et que la moyenne de la mesure par la méthode des dilutions était de 218 mg O₂/l. La méthode ne semble donc pas plus précise.

4.3.3 Influence du type de biomasse et de la quantité d'effluent injectée

La synthèse des analyses de la variance conduite sur les données expérimentales disponibles (DBO estimée) est reproduite dans le tableau suivant. Il s'agit de la DBO estimée par l'intégrateur de la courbe en sac, puisque les autres méthodes ne sont pas apparues assez fiables.

Tableau 2 Synthèse de l'analyse de la variance sur la DBO estimée (en mg/l).

Table 2 Synthesis of ANOVA on estimated BOD (in mg/l).

Substrat	Variations liées à la biomasse	Variations liées à l'injection	Interactions
S1	NS	NS	NS
S2	NS	NS	NS
S3	NS	NS	NS
S4	*	NS	NS
S5	*	NS	Non dét.
S6	**	*	*
S7	NS	NS	Non dét.

On constate que pour les substrats de type « effluent domestique », ainsi que pour le glucose, les résultats ne sont pas affectés de manière significative par les variations liées au type de biomasse utilisé ou à la quantité d'effluent injectée (dans la gamme expérimentale utilisée). Cela ne signifie pas que ces facteurs ne peuvent affecter la mesure, mais que dans l'état actuel de la technique, ces variations éventuelles sont masquées par les variations intrinsèques à la méthode. Lorsque l'effluent devient plus difficile à dégrader (S4, S5), le type de biomasse utilisé pour conduire l'essai a alors une importance marquante. Lorsque l'effluent est particulièrement difficile à dégrader (S6), tant la biomasse employée que la quantité injectée ainsi que la combinaison de ces facteurs peuvent produire des variations marquées sur la valeur estimée de la DBO (exprimée en mg/l).

Pour la méthode classique de mesure de la DBO, ces remarques sont assez évidentes, et l'on sait que l'on doit utiliser une biomasse acclimatée pour procéder à la mesure. De plus, dans ce cas la quantité injectée est toujours limitée puisqu'il faut conserver une teneur suffisante en oxygène dissous dans le milieu. Dans le cas d'un respiromètre ouvert, on pouvait espérer une situation différente dans la mesure où la teneur en biomasse est plus importante, et celle-ci étant en état de respiration endogène au début de l'essai, elle aurait pu être très peu sensible à la qualité de substrat.

4.3.4 Influence de l'âge des boues

Pour préciser l'influence de l'âge des boues sur la mesure nous avons effectué des essais avec le substrat S4 sur les boues B1 fraîches puis sur boues de 5 jours et de 20 jours. Le *tableau 3* montre les résultats obtenus, l'analyse de variance ne montre aucune influence significative de l'âge des boues.

Tableau 3 Comparaison des résultats en DO (mg/l) de boues d'âges différents.

Table 3 Comparison of OD in mg/l results with sludges of different ages.

Quantités injectées (ml)	Boues fraîches	Age des boues (5 j)	Age des boues (20 j)	
31	0,288	0,466	0,459	
62	1,219	0,504	1,319	
155	4,093	1,315	4,491	
Analyse de la variance				
Source de variation	Degré de liberté	Σ des carrés des écarts	Carrés moyens	F
Quantité injectée	2	13,98	6,99	8,30 *
Age des boues	2	3,03	1,52	1,80
Intéraction	4	3,37	0,84	
TOTAUX	8	20,38		

5 – CONCLUSIONS

La mesure de DBO par des techniques respirométriques reste une méthode difficile à mettre en œuvre. Tout d'abord, il faut constater que la méthode normalisée est elle-même peu précise et de ce fait est en soi une méthode de référence discutable.

Nous constatons par exemple, bien que cela ne soit pas l'objet de la présente étude, que dans notre cas, la méthode manométrique (Hach) et la méthode des dilutions se sont avérées statistiquement différentes. ROQUES (1977) avait déjà signalé ce fait et indiqué que la méthode respirométrique conduit généralement à des résultats 20 % supérieurs pour la DBO. Pour notre part, nous pouvons confirmer que les méthodes se sont effectivement avérées différentes, par contre la méthode manométrique a plutôt donné des résultats inférieurs à la méthode par dilutions.

Les tests de DBO à court terme offrent potentiellement des avantages :

- la rapidité, l'essai le plus long dans notre cas a duré 3 h 10,
- ils sont facilement automatisables et peu coûteux,

– l'oxygène consommé intervient effectivement dans les processus biologiques, et donc correspond bien à la partie biodégradable du substrat.

Pour les substrats simples, ils peuvent conduire à de bons résultats, malheureusement, pour les substrats complexes, la reproductibilité et la précision de la méthode sont médiocres.

Parmi les différentes méthodes examinées, la seule qui nous apparaît acceptable est la méthode basée sur l'intégration de la courbe en sac.

L'inconvénient majeur de la méthode fondée sur la mesure de la hauteur de pic est d'être par trop aléatoire. En effet, deux courbes peuvent avoir le même déficit critique tout en ayant des surfaces, et donc des DBO différentes, en raison des profils différents des courbes. Or, ceux-ci dépendent étroitement de la nature des boues et des substrats. Ce phénomène est bien connu et avait déjà été observé par divers auteurs (BROUZES, 1972 ; BLOK, 1974).

En ce qui concerne la méthode liée à la détermination de la courbe en sac, on constate une très grande variabilité des résultats obtenus. Cette variabilité est intrinsèque à la méthode, car même pour des substrats homogènes, qui peuvent être pesés avec précision, et dont les caractéristiques ne peuvent avoir évoluées au cours des essais, (glucose, poudre de lait), la variabilité reste aussi grande. A tel point que l'utilisation de l'analyse de la variance pour effectuer les comparaisons devient elle-même discutable. Si on accepte cette technique, on constate que pour les substrats simples (effluents domestiques, glucose), les boues utilisées, leur âge, ainsi que la quantité d'effluent injectée n'expliquent pas la variabilité observée. Au fur et à mesure que le substrat devient plus difficile à dégrader, le type de biomasse, puis la quantité injectée deviennent des facteurs explicatifs de la variation entre les résultats.

On doit donc en conclure que c'est avant tout l'état physiologique de la biomasse au moment de l'essai qui est l'élément déterminant de la mesure. Bien entendu lors de nos essais, nous avons attendu que la vitesse de respiration soit constante (respiration endogène constante) avant de procéder à un nouvel essai. A ce moment, on laissait décanter la biomasse, on extrayait une quantité de surnageant égale à l'injection suivante et on commençait l'essai suivant (détermination de k_1). Il apparaît que cette façon de conduire les essais est insuffisante et qu'il faudrait nettoyer les boues avant chaque essai, afin d'éliminer toute trace de produit non biodégradé ou absorbé. Cette manipulation supplémentaire réduit cependant l'applicabilité pratique de la méthode et allonge considérablement la durée entre deux essais (décantation, filtration, centrifugation, lavages...).

D'autre part, l'utilisation d'une quantité plus importante de micro-organismes ne dispense pas d'utiliser une biomasse acclimatée au substrat étudié, du moins pour des substrats plus complexes. Cette technique est donc inutilisable pour déterminer la DBO d'un échantillon de provenance inconnue. Elle reste éventuellement utilisable, moyennant certaines adaptations, lorsque l'on travaille toujours avec le même substrat, dont on veut mesurer les variations de concentrations (variations de charge). Dans ce cas, on peut étalonner l'appareil par rapport à la méthode de référence et recalculer la constante de conversion entre la demande en oxygène (DO) et la DBO.

Comme les auteurs précédents, VERNIMMEN *et al.*, 1967 ; LEBLANC, 1974), il faut considérer que les méthodes respirométriques rapides ne conduisent pas à une détermination suffisamment exacte de la DBO. Encore faut-il se poser la question de savoir si la DBO₅ est bien la mesure la plus adéquate de la pollution. La définition d'une nouvelle mesure plus justifiée d'un point de vue théorique serait probablement plus profitable que de chercher en vain à estimer une valeur intrinsèquement peu exacte.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Hach Chemical Company, 1980. Bulletin 3-1-80-1ed.-6 Bottle Manometric Apparatus model 2173 b.
- Standard Methods for the examination of water and waste water, 1985. APHA, 16th edition.
- ARTHUR R.M., HURSTA W.N. Short term BOD using the automatic respirometer. Proc. 23 Ind. Wast. Conf. Purdue Univ.
- BLOK J., 1974. Respirometric measurements on activated sludge. *Water Research*, vol. 8, 11-18.
- BLOK J., 1976. Measurements of the viable biomass concentration in activated sludge by respirometric techniques, *Water Research*, vol. 10, 919-925.
- BROUZES P., 1972. Cinétique de la métabolisation des polluants, vitesse d'élimination de la DBO. *TSM*, N° 6, 239-249.
- DAGNELIE P., 1984. *Théorie et méthodes statistiques*. Vol. 2, *Applications agronomiques*. Les Presses Agronomiques de Gembloux, Gembloux.
- EDELIN F., LAMBERT G., SUEIRAS F., 1978. Un respiromètre continu simple pour le contrôle des boues activées, *Tribune du Cebedeau*, 414, 211-215.
- EDELIN F., 1983. Nouvelles recherches sur la courbe en sac, II partie, *Tribune du Cebedeau*, 470, p. 37-45.
- EDELIN F., 1991. Traitabilité des effluents de décharge. Aspects économiques de la gestion et du traitement des déchets ménagers et industriels, FUL.
- FARKAS P.A., 1981. The use of respirometry in biological treatment plant control. *Wat. Sci. Tech.*, 13, 125-131.
- HUANG J.Y.C., CHENG M.D., 1984. Measurement and new applications of oxygen uptake rates in activated sludge processes. *J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, vol 56, 3, 259-265.
- HUANG J.Y.C., CHENG M.D., MUELLER J.T., 1985. Oxygen uptakes rates for determining activity and application. *Water Research*, vol. 19, 3, 373-381.
- JUPSIN H., 1989. TFE, ISIC Mons-FUL Arlon.
- LAMB J.C., WESTGARTH W.C., ROGERS J.L., VERNIMMEN A.P., 1964. A technique for evaluating the biological treatability of industrial waste *JWPCF*, 36, 1263-1284.
- LEBLANC P.J., 1974. Review of rapid BOD test methods, *JWPCF*, vol. 46, 9, 2202-2208.
- LIEBMAN H., OFFHAUS K., 1966. *Abwassertechnik*, 17, 3, IV-VI.
- MONTGOMERY H.A.C., 1967. The determination of biochemical oxygen demand by respirometric methods. *Water research*, 1, 631-662.
- OLAH J., PRINCZ P., 1986. A new rapid method for determining sludge activity, *Water Research*, 20, 12, 1529-1534.
- ROQUES H., 1979. *Fondements théoriques du traitement biologique des eaux*, Tec. et Doc.
- SUSCHKA J., FERREIRA E., 1986. Activated sludge respirometric measurements. *Water Research*, 20, 2, 137-144.

- VASEL J.L., 1988. Contribution à l'étude des transferts gazeux en gestion des eaux, Thèse-FUL.
- VERNIMMEN A.P., HENKEN E.R., LAMB J.C., 1967. A short term biochemical oxygen demand test. *J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, 39, 1006-1020.
- WARNIER P., 1988. TFE, ISIC Mons-FUL Arlon.
- WOLTERS N., ILIC P., RINCKE G., 1976. Wissenschaftliche Gutachten über Fassung und Aufbereitung des Sickerwassers der geplanten Deponie Grube Messel. Rapport interne Darmstadt.