



CENTRE RÉGIONAL POUR L'EAU POTABLE ET L'ASSAINISSEMENT À FAIBLE COÛT

Centre collaborant de l'OMS

CONTRÔLE ET SUIVI DE LA QUALITÉ DES EAUX USÉES PROTOCOLE DE DETERMINATION DES PARAMETRES PHYSICO-CIMIQUES ET BACTERIOLOGIQUES



- Physico-chimie
- Organique
- Bactériologie

Guide

Janvier 2007

**CONTRÔLE ET SUIVI DE LA QUALITÉ DES EAUX USÉES
PROTOCOLE DE DETERMINATION DES PARAMETRES
PHYSICO-CIMIQUES ET BACTERIOLOGIQUES**

- Physico-chimie
- Organique
- Bactériologie

Janvier 2007

DIRECTEUR DE PUBLICATION :
Ing. Msc. Cheick Tidiane TANDIA,
Directeur général du CREPA

© CREPA Janvier 2007

LISTE DES ABRÉVIATIONS

- AFNOR** : Agence française de normalisation
B.L.V.B.B : Bouillon lactosé au vert brillant et à la bile
BCP : Bromocrésol pourpre
BEA : Bilié à l'esculine
COT: Carbone organique total
CREPA: Centre régional pour l'eau potable et l'assainissement à faible coût
CT: Coliformes totaux
CTT: Coliformes thermotolérants
DBO: Demande biochimique en oxygène
DCO: Demande chimique en oxygène
MES: Matières en suspension
NPP: Nombre le plus probable
NTU : Unité néphélométriques
pH : Potentiel hydrogène
SF : Streptocoques fécaux
STEP : Station d'épuration
TTC: chlorure de 2, 3,5 triphényl tétrazolium
UFC : Unité formant colonies

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS	III
LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX	VIII
PREFACE	IX
INTRODUCTION	1
I. MESURE ÉLECTROMÉTRIQUE DU PH	2
1. Définition	2
2. Principe	2
3. Appareillage	2
4. Mode opératoire	2
4.1. Préparation de l'instrumentation.....	2
4.2. Etalonnage	3
4.3. Mesure du pH	3
5. Travail à effectuer	4
II. MESURE DE LA CONDUCTIVITÉ	5
1. Rappels théoriques.....	5
1.1. Définition de la conductivité	5
1.2. Mesure de la conductivité.....	5
1.3. Conductivité et température	6
1.4. Conductivité et minéralisation	7
2. Manipulation	8
2.1. Instrumentation.....	8
2.2. Mode opératoire	8
2. 3. Travail à effectuer	9
III. MESURE DE LA TURBIDITÉ	10
1. Définition	10
2. Principe.....	10
3. Appareillage	11
4. Mode opératoire	11
4.1. Préparation de l'instrumentation	11
4.2. Etalonnage.....	11
4.3. Mesure d'une turbidité.....	11
5. Travail à effectuer	11

IV. DOSAGE DE L'AZOTE	12
1. Rappels théoriques	12
1.1. Définitions.....	12
1.2. Relation entre les diverses fractions azotées	12
2. Manipulation	13
2.1. Dosage de l'azote kjeldahl.....	13
2.2. Dosage de l'azote ammoniacal	17
2.3. Dosage de l'azote organique.....	17
2.4. Conseils pour la manipulation	17
V. DOSAGE DES NITRITES	18
1. Définition	18
2. Principe	18
3. Produits, matériel et instrumentation	18
4. Mode opératoire	19
4.1. Préparation d'une solution fille à 100 mg/l de nitrites	19
4.2. Préparation de la gamme étalon	19
4.3. Développement de la coloration.....	19
5. Mesures et résultats	20
6. Travail à effectuer.....	20
VI. MESURE DES M.E.S (MATIÈRES EN SUSPENSION)	21
1. Définition	21
2. Principe.....	21
3. Appareillage et verrerie	21
4. Réactifs	21
5. Mode opératoire.....	21
6. Expression des résultats.....	22
VII. MESURE DE LA DCO (DEMANDE CHIMIQUE EN OXYGÈNE)	23
1. Définition	23
2. Principe.....	23
3. Produits et matériel	24
4. Mode opératoire	24
4.1. Vérification du titre de la solution ferreuse	24
4.2. Essai a blanc	25
4.3. Détermination de la DCO	25
5. Conseils pour la manipulation	27

VIII. MESURE DE LA DBO (DEMANDE BIOCHIMIQUE EN OXYGÈNE)	28
1. But	28
2. Principe de la méthode manométrique	28
3. Mode opératoire	28
4. Paramètres influençant la mesure	29
4.1. Quantité à analyser	29
4.2. Quantité à mesurer	29
4.3. Valeur du pH	29
4.4. Température.....	29
5. Méthode de dilution	29
5.1. Mode opératoire.....	30
5.2. Volume de la prise d'essai	30
5.3. Calcul de la DBO	30
6. Relation entre la DBO, la DCO et le COT	30
6.1. Rapport DCO/COT	31
6.2. Rapport DBO/DCO.....	31
6.3. Rapport DBO ₅ /COT.....	31
6.4. Rapport DCO/DBO ₅	32
IX. MESURE DES INDICATEURS DE POLLUTION FECALE	33
1. Méthodes par filtration sur membrane et par étalement	33
1.1. Méthode par filtration.....	33
1.2. Méthode par étalement	35
1.3. Incubation	35
1.4. Dénombrement ou comptage des colonies	36
1.5. Expression des résultats	36
2. Méthode par ensemencement en milieu liquide ou du nombre le plus probable (NPP)	36
2.1. Principe	36
2.2. Prise d'essai.....	37
2.3. Ensemencement.....	37
2.4. Expression des résultats	38
2.5. Mode de calcul	41
3. Milieux de cultures, températures et temps d'incubation	41
BIBLIOGRAPHIE	43

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

FIGURES

Figure 1 : Dispositif de dosage ammoniacal	16
Figure 2 : Dispositif de dosage de la solution ferreuse	24
Figure 3 : Dispositif de dosage de la DCO.....	26
Figure 4 : Dispositif de filtration	34

TABLEAUX

Tableau 1 : Facteurs de conversion de la conductivité.....	7
Tableau 2 : Relations entre la conductivité et la minéralisation à 20°C	7
Tableau 3 : Volumes des réactifs à considérer pour la préparation de la gamme étalon.....	19
Tableau 4 : Volumes des réactifs à considérer	20
Tableau 5 : Facteur de conversion de la DBO ₅ en fonction du volume de prise	29
Tableau 6 : Illustrations des règles pour le choix des dilutions	39
Tableau 7 : Indices NPP par 100 ml d'échantillons et limites de confiance à 95% (avec 3 séries de tubes contenant 10, 1, et 0.1 ml d'échantillon).....	5 40
Tableau 8 : Temps, températures d'incubation et milieux de cultures des coliformes et coliformes thermotolérants en fonction des méthodes de recherche.....	41
Tableau 9 : Temps, températures d'incubation et milieux de cultures des streptocoques fécaux en fonction des méthodes de recherche.....	42

PREFACE

« L'eau est source de vie », a-t-on coutume de le dire. Elle est aussi importante dans la vie que dans l'économie humaine. Sous la pression des besoins considérables et en raison de l'accroissement de la population et de son niveau de vie, on est passé de l'emploi des eaux de source et de nappe, à une utilisation de plus en plus poussée des eaux de surface. En outre, se sont développées les techniques de recherches d'eaux souterraines et les méthodes de recyclage.

Simultanément, les causes de pollution se sont étendues. La pollution permanente est liée aux rejets industriels, à l'emploi dans l'agriculture des pesticides et des engrais et surtout aux eaux usées d'origine urbaine.

Dans les pays d'Afrique, surtout ceux de la zone soudano sahélienne, les problèmes de l'accès à l'eau des populations se posent avec acuité surtout avec l'irrégularité des pluies combinée à l'insuffisance des ressources d'eau naturelles et de la pollution. Face à ces conditions, les populations s'orientent vers les sources d'eaux usées plus ou moins traitées pour la satisfaction de leurs besoins en eau ou pour l'irrigation des cultures malgré les risques sanitaires encourus. Face à cela, de nombreuses technologies, notamment les stations d'épuration, ont été mises en place afin de procéder au traitement des eaux déjà utilisées. En recourant à *l'épuration et/ou au traitement des eaux*, on vise la production d'une eau potable ou réutilisable à partir d'une eau brute plus ou moins polluée.

Mais la complexité du problème demeure dans le fait que les effluents issus des *systèmes de traitement* doivent respecter les normes établies pour leur réutilisation en agriculture ou leur rejet dans la nature.

INTRODUCTION

En Afrique subsaharienne, l'intérêt principal du traitement des eaux usées réside dans la réutilisation des sous produits comme les effluents traités, ou par contre dans leur rejet sans conséquences néfastes dans la nature. Plusieurs systèmes d'épuration des eaux usées ont été testés en Afrique. Le Centre régional pour l'eau potable et l'assainissement à faible coût (CREPA) possède en son sein une station d'épuration de ses eaux usées. Cette station a été renforcée par la construction de nouveaux ouvrages, notamment un réseau d'égouts de faible diamètre (REFAID), pour la collecte et le traitement des eaux usées des villas adjacentes du GEE (Groupe des écoles EIER-, ETSHER).

La maîtrise des paramètres de fonctionnement de ces ouvrages constitue une préoccupation pour le CREPA et passe nécessairement par un suivi régulier. L'objectif principal du suivi d'une station d'épuration est de vérifier si les exigences de rejet établies pour cette station sont respectées.

Ce présent ouvrage constitue un guide pour le suivi des performances épuratoires de la station et pour le contrôle de la qualité (norme) de l'effluent à la sortie de chaque unité de traitement. Il présente les différents paramètres analysés ainsi que les méthodes de détermination de ces paramètres.

I. MESURE ÉLECTROMÉTRIQUE DU pH

1. Définition

Le pH (potentiel hydrogène) est une des caractéristiques fondamentales de l'eau. Le pH donne une indication de l'acidité d'une substance. Il est déterminé à partir de la quantité d'ions d'hydrogène hydronium (H^+) ou d'ions hydroxide (OH^-) contenus dans la substance. Quand les quantités de ces deux ions sont égales, l'eau (ou la substance) est considérée comme neutre, et le pH a une valeur aux alentours de 7. Le pH d'une substance varie entre 1 et 14. Au-dessus de 7, la substance est considérée comme basique et la quantité d'ions OH^- est supérieure à celle d'ions H^+ . Au-dessous de 7, la substance est acide ; les ions H^+ sont en quantités supérieures. La valeur du pH est à prendre en considération lors de la majorité des opérations de traitement de l'eau, surtout lorsque celles-ci font appel à une réaction chimique et parce que certains procédés nécessitent d'être réalisés avec un pH spécifique pour être efficace.

Le pH est l'un des paramètres chimiques importants lorsqu'il s'agit de déterminer la qualité d'une eau. Il sert au contrôle de la qualité de l'eau à l'entrée de la station d'épuration (STEP) (les variations importantes du pH sont presque toujours la conséquence de rejets industriels).

2. Principe

La méthode est basée sur l'utilisation d'un pH-mètre. Le pH-mètre est un voltmètre un peu particulier qui se caractérise par une très grande impédance d'entrée en raison de la forte résistance présentée par l'électrode de mesure.

3. Appareillage

Le matériel de mesure du pH se compose de :

- Un pH mètre WTW 521 équipé d'une électrode combinée ;
- Un thermomètre intégré ;
- Un agitateur magnétique.

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'instrumentation

- Vérifier les diverses connexions : secteur, électrodes, etc.;
- Dégager l'électrode de son support ;
- Oter le chapeau protecteur de l'électrode double, le déposer en lieu sûr ;
- Compléter éventuellement le niveau en électrolyte de remplissage, rincer abondamment l'extrémité de l'électrode avec de l'eau distillée ;
- Essuyer l'extrémité de l'électrode avec du papier JOSEPH ;
- Replacer l'électrode sur son support.

4.2. Etalonnage

❖ 1ère étape

Mesurer approximativement le pH de l'échantillon à l'aide d'un papier indicateur.

❖ 2ème étape

- Introduire dans le vase de mesure parfaitement propre un petit barreau magnétique ;
- Rincer le vase et le barreau à l'eau distillée tout propre puis avec un premier tampon dont le pH est inférieur à celui de la solution à étudier ;
- Introduire le tampon dans le vase ;
- Immerger l'électrode en veillant :
 - à ce que le fritté de l'électrode de référence soit immergé,
 - à ce que le barreau magnétique puisse tourner librement.
- Mettre l'appareil sous tension, attendre quelques minutes (2 – 5 minutes);
- Mesurer la température du tampon et l'afficher sur le correcteur de température, une certaine valeur de pH s'affiche ;
- Amener cette valeur à celle du tampon en actionnant sur le potentiomètre de standardisation (bouton gauche) et attendre que la lecture soit stable ;
- Retirer l'électrode, la rincer et l'essuyer ;
- Remettre le tampon dans son flacon d'origine ;
- Rincer le vase de mesure et l'électrode à l'eau distillée puis avec un second tampon dont le pH est supérieur à celui de l'échantillon.

❖ 3ème étape

- Introduire le second tampon dans le vase ;
- Agir comme si dessus pour la température, immerger l'électrode, une nouvelle valeur de pH s'affiche ;
- Amener cette valeur à celle correspondant au pH du second tampon à l'aide du potentiomètre de réglage de pente (slope) ;
- Attendre que la lecture soit stable ;
- Replacer le deuxième tampon dans son flacon et rincer l'électrode.
- L'appareil est alors étalonné et prêt à l'emploi.

4.3. Mesure du pH

- Rincer le vase, le barreau magnétique, l'électrode, avec de l'eau distillée puis avec l'échantillon ;
- Remplir le vase de mesure avec l'échantillon ;
- Faire la correction de température ;

- Immerger l'électrode avec les précautions habituelles et agiter ;
- Lire directement le pH lorsque la valeur s'est stabilisée.

5. Travail à effectuer

Pour chacun des échantillons proposés :

- Evaluer approximativement le pH à l'aide du papier pH,
- Sélectionner les tampons convenant le mieux à l'étalonnage de l'appareil,
- Effectuer la standardisation et le réglage de la pente,
- Mesurer le pH de l'échantillon.

II. MESURE DE LA CONDUCTIVITÉ

1. Rappels théoriques

La conductivité électrique d'une eau traduit l'aptitude que possède celle-ci à laisser passer le courant électrique. Le transport des charges se faisant par l'intermédiaire des ions contenus dans l'eau, il est logique d'admettre que la conductivité d'une eau sera d'autant plus importante que sa minéralisation sera élevée.

Il existe donc une relation entre la conductivité d'une eau et sa minéralisation, d'où l'intérêt que présente la mesure de la conductivité, mesure quasi instantanée, pour connaître la minéralisation d'une eau.

1.1. Définition de la conductivité

La conductivité électrique, C, d'une eau, est la conductance, c, d'une eau comprise entre deux électrodes métalliques de 1 cm^2 de surface, séparée l'une de l'autre par une distance de 1 cm.

La conductivité C est l'inverse de la résistivité R.

$$C = \frac{1}{R} \quad (\text{Eq. 1})$$

L'unité de conductivité utilisée en chimie des eaux est le micro Siemens $\mu\text{S}/\text{cm}$.

La relation entre la conductivité et la résistivité s'écrit :

$$\text{Résistivité Ohm.cm} = \frac{1.000.000}{\text{Conductivité } \mu\text{S/cm}} \quad (\text{Eq. 2})$$

1.2. Mesure de la conductivité

1.2.1. Principe de la mesure

La mesure de la conductivité se ramène à celle de la résistance d'une colonne d'eau. A cet effet on utilise un conductivimètre qui n'est en fait qu'un résistivimètre un peu particulier. Le conductivimètre fait appel à un montage dérivé du pont de WHEATSTONE, le pont de KOHLRAUCH.

Ce pont est alimenté par un courant alternatif à une fréquence de 1000 à 4000 Hz, afin d'éviter le phénomène de polarisation des électrodes.

Lorsque le point est équilibré on a : $r = r_0 \frac{r_1}{r_2}$ (Eq. 3)

On a toujours par ailleurs : $r = R \frac{L}{S}$ (Eq. 4)

Avec $L =$ longueur du conducteur
 $S =$ section du conducteur

Etant donné que $R = \frac{1}{C}$, on peut écrire (3) sous la forme : $r = \frac{1}{C} \cdot \frac{L}{S}$

$$\text{D'où :} \quad C = \frac{1}{r} \cdot \frac{L}{S} \quad (\text{Eq. 5})$$

Le rapport L/S est relatif aux caractéristiques géométriques de la cellule et s'appelle « constante de cellule ». Si l'on connaît cette constante, la mesure de r permet ainsi d'accéder à C.

1.2.2. Détermination de la constante de cellule

Les cellules du commerce portent en général l'indication de la valeur de leur constante gravée sur l'enveloppe. Cependant cette constante étant liée aux caractéristiques géométriques de la cellule, si celle-ci subit une altération quelconque, de sa surface ou autre, il est nécessaire de procéder au contrôle de la valeur de K.

La cellule est alors immergée dans une solution de conductivité connue. En général on utilise une solution de chlorure de potassium (KCl), on lit r et connaissant c on en déduit L/S d'après (4).

Notons que suivant les constructeurs, la constante peut être exprimée par L/S ou par son inverse S/L.

En toute rigueur L/S est la « constante de cellule » et S/L est le « facteur de cellule ».

1.3. Conductivité et température

Tout comme la résistivité, la conductivité est fonction de la température. On a pu observer en que C augmentait en moyenne de 2% par degré. Toute mesure de conductivité doit donc se faire à température connue et stabilisée. En général les résultats sont ramenés à 20°C.

Si la plupart des appareils modernes possèdent un correcteur de température ramenant automatiquement la valeur de C à 20°C, il est toujours possible pour les conductivimètres moins sophistiqués de ramener la mesure à 20°C en appliquant la relation suivante :

$$C_{20} = \frac{C_t}{[1 + 0,025(T - 20)]} \quad (\text{Eq. 6})$$

Le tableau suivant donne le coefficient par lequel il convient de multiplier C mesurée à la température t pour exprimer le résultat à 20°C.

$$\text{On appliquera donc :} \quad C_{20} = C_t * f \quad (\text{Eq. 7})$$

Le tableau ci-après représente la conductivité des étalons classiques en fonction de la température.

Facteur permettant de ramener la mesure de la conductivité à 20°C

Tableau 1 : Facteurs de conversion de la conductivité

Température (°C)	KCl N/10		KCl N/50		KCl N/100	
	Conductivité (µS/cm)	Résistivité (? .cm)	Conductivité (µS/cm)	Résistivité (? .cm)	Conductivité (µS/cm)	Résistivité (? .cm)
15.....	10410	95.98	2242	446	1147	872
16.....	10670	93.67	2293	436	1174	852
17.....	10930	91.46	2347	426	1199	834
18.....	11190	89.36	2398	417	1224	817
19.....	11430	87.44	2451	408	1250	800
20.....	11680	85.43	2500	400	1279	782
21.....	11960	83.59	2551	392	1305	766
22.....	12220	81.83	2604	384	1331	751
23.....	12470	80.14	2659	376	1359	736
24.....	12730	78.52	2710	369	1387	721
25.....	12970	77.05	2769	362	1412	708

1.4. Conductivité et minéralisation

On a pu établir les relations suivantes entre la conductivité d'une eau naturelle et sa minéralisation, à 20°C.

Tableau 2 : Relations entre la conductivité et la minéralisation à 20°C

Conductivité en µS/cm	Minéralisation en mg/L
C < 50	1,365 x C
50 < C < 166	0,947 x C
166 < C < 333	0,769 x C
333 < C < 833	0,716 x C
833 < C < 10000	0,758 x C
C > 10000	0,850 x C

Ces relations ont permis de transformer des conductivimètres en « salinimètres » qui ne sont que des appareils de mesure de conductivité sur lesquels on a adapté une échelle en mg/l.

Rappelons au sujet de cette abaque que l'on passe de la résistivité à la conductivité et inversement par l'application (1) :

$$\text{Résistivité ohm.cm} = \frac{1.000.000}{\text{Conductivité } \mu\text{S/cm}} \quad (\text{Eq. 8})$$

Les résultats obtenus par ces méthodes ne constituent qu'une évaluation de la minéralisation car la conductivité ou la résistivité se trouve influencée par un certain nombre de facteurs, autres que la température, tels :

- le pH,
- les caractéristiques des ions,
- la taille,
- la charge,
- le degré d'ionisation.

S'il apparaît plus satisfaisant, à priori, de déterminer la minéralisation par la pesée de l'extrait sec, là encore on ne pourra cependant obtenir qu'un résultat approximatif étant donné les phénomènes subis par l'eau durant l'évaporation :

- Transformation des bicarbonates en carbonates,
- Formation de sulfates hydratés, etc.,

Il en résulte donc que le poids de l'extrait sec ne représente plus exactement celui des sels initialement dissous dans l'eau.

Quelle que soit la méthode utilisée, la détermination de la minéralisation restera toujours approximative, il s'avère cependant que la précision des résultats obtenus soit par pesée ; soit par conductivimétrie, demeure compatible avec le but recherché.

2. Manipulation

2.1. Instrumentation

On utilisera un appareil de terrain soit le LF 90, soit le LF 91. Ces deux appareils sont munis d'une compensation de température manuelle pour le LF 90, automatique pour le LF 91.

2.2. Mode opératoire

Quel que soit l'appareil utilisé :

- Vérifier les connexions cellule/conductivimètre ;
- Rincer soigneusement la cellule de mesure à l'eau distillée et l'essuyer convenablement.

2.2.1. Vérification de la constante

En général, la valeur de la constante est gravée sur la cellule. S'agissant des cellules utilisées ici, la constante donnée est égale à 1. C'est cette valeur qu'il convient de contrôler.

Dans un bêcher parfaitement propre, introduire un volume d'étalon qui permet d'immerger convenablement la cellule.

Nota : On aura toujours intérêt à « étalonner » l'appareil à partir d'un standard dont la conductivité est de l'ordre de celle que l'on se propose de mesurer. Durant toutes les mesures qui suivent, la solution devra être modérément agitée en vue de son homogénéisation.

❖ *Conductivimètre LF 90*

- Mettre l'appareil sous tension, commutateur inférieur ;
- Mesurer la température de l'étalon et placer le compensateur de température sur la position correspondant à cette valeur ;
- A partir de cet instant tous les résultats seront relatifs à la température habituelle à laquelle on mesure C, soit 20°C ;
- Placer le commutateur sur mS/cm, (milli siemens) ;
- Lire le résultat, soit C1.

S'il apparaît une discordance entre la valeur lue C1 et la conductivité réelle de l'étalon Cr, c'est que la constante de cellule est différente de celle inscrite sur sa gaine.

On a :
$$C_r = C_1 * K \quad (\text{Eq. 9})$$

D'où :
$$K = C_r / C_1 \quad (\text{Eq. 10})$$

Par la suite, il conviendra de toujours multiplier le résultat affiché par K et noter cette valeur.

❖ *Conductivimètre LF 91*

- Mettre l'appareil sous tension ;
- Placer le commutateur inférieur sur X ;
- Placer le commutateur supérieur sur mS/cm (milli siemens) ;
- La compensation de température est automatique, l'appareil rend directement la conductivité à 20°C. (On peut connaître la température en plaçant le commutateur sur °C) ;
- Procéder ensuite comme avec le LF 90.

2.2.2. Mesure d'une conductivité

- Rincer et essuyer soigneusement la cellule ;
- Immerger la cellule dans la solution inconnue ;
- Placer le commutateur sur Ms/cm et lire le résultat ;
- Multiplier le résultat par la valeur K pour avoir la valeur exacte de la conductivité.

2. 3. Travail à effectuer

- Déterminer la constante de la cellule ;
- Mesurer la conductivité des échantillons proposés (en $\mu\text{S}/\text{cm}$) ;
- Calculer la résistivité de ces mêmes échantillons (en ohm.cm) ;
- Déduire de ces mesures leur minéralisation.

III. MESURE DE LA TURBIDITÉ

1. Définition

Une eau turbide est une eau trouble. Cette caractéristique vient de la teneur de l'eau en particules en suspension, associées au transport de l'eau. Au cours de ce parcours, l'eau se charge de quantités énormes de particules, qui troublent l'eau. Les matières, mêlées à l'eau, sont de natures très diverses : matières d'origine minérale (argile, limon, sable...), micro particules, micro organismes.

La turbidité se mesure par la réflexion d'un rayon lumineux dans l'eau. La turbidité est mesurée par un test optique qui détermine la capacité de réflexion de la lumière (l'unité de mesure est le « NTU » - unités néphélogométriques).

La turbidité joue un rôle très important dans les traitements d'eau. En effet :

- Elle indique une probabilité plus grande de présence d'éléments pathogènes.
- La turbidité perturbe la désinfection. Le traitement par ultraviolets est inefficace et le traitement par le chlore perd son efficacité ;
- La matière organique associée à la turbidité favorise la formation de biofilms dans le réseau et par conséquent, le développement de bactéries insensibles au chlore notamment.

2. Principe

La turbidimétrie ou opacimétrie est une variante de la spectrométrie d'absorption. Les éléments en suspension dans un liquide absorbent certaines radiations selon une loi voisine de celle de BEER LAMBERT laquelle est rappelée ci-dessus :

$$I_t = I_0 e^{-f \cdot c} \quad \text{(Eq. 11)}$$

Avec : I_0 = intensité du faisceau incident

I_t = intensité transmise après traversée du liquide

l = épaisseur traversée

c = concentration en moles/l

f = coefficient lié à la longueur d'onde utilisée

La formule théorique applicable à l'opacimétrie s'exprime par la loi de RAYLEIGH :

$$I_t = I_0 e^{-KNd^3/l^4} \quad \text{(Eq. 12)}$$

Avec : K = coefficient

N = nombre de particules / unité de volume

l = longueur d'onde

d = diamètre des particules

La turbidimétrie mesure alors l'intensité lumineuse du faisceau transmis après traversée du milieu. La mesure s'effectue dans le même sens que celui du faisceau incident.

3. Appareillage

- Turbidimètre TL 31 CIFEC ;
- Etalon.

4. Mode opératoire

4.1. Préparation de l'instrumentation

- Mettre l'appareil sous tension ;
- Saisir délicatement l'étalon 0.1 NTU et l'essuyer sans l'agiter ;
- Veiller à ce que le chiffon ou le papier utilisé ne laisse aucune pluche sur la paroi du tube de verre.

4.2. Etalonnage

- Ouvrir la chambre noire et y placer l'étalon ;
- Coiffer la chambre noire ;
- Placer le commutateur de sélection sur la position 10 (10 constitue la limite supérieure de lecture, soit 10 NTU) ;
- Ajuster l'affichage à la valeur de l'étalon, soit 0,1 dans ce cas, à l'aide du bouton de tarage ;
- Ouvrir la chambre noire ;
- Retirer l'étalon et le stocker verticalement.
- L'appareil peut alors être utilisé pour un échantillon dont la turbidité est < 10 NTU.

4.3. Mesure d'une turbidité

- Remplir le tube de mesure avec l'échantillon ;
- Essuyer le tube de mesure ;
- Introduire le tube de mesure dans la chambre ;
- Fermer la chambre ;
- Lire directement le résultat.

Note : Si l'échantillon donne une turbidité $>$ à celle de l'étalon, changer de gamme de lecture, prendre 100 ou 1000. Les unités JAKSON et NTU sont comparables aux unités FTU.

5. Travail à effectuer

- Pour chacun des échantillons proposés :
- Sélectionner l'étalon le plus adapté ;
- Etalonner l'appareil ;
- Mesurer la turbidité.

IV. DOSAGE DE L'AZOTE

1. Rappels théoriques

L'azote peut se présenter dans les eaux aussi bien sous forme minérale qu'organique.

En général, s'agissant des eaux naturelles, ce sont les formes minérales qui sont de loin les plus importantes.

1.1. Définitions

Un certain nombre de termes doivent être précisés :

❖ *Azote total*

L'azote total comprend l'ensemble des formes azotées, aussi bien minérales qu'organiques.

❖ *Azote KJELDAHL*

L'azote KJELDAHL correspond à celui qui se trouve sous la forme de composés azotés organiques et d'ammonium. Il ne comprend donc pas des composés oxydés de l'azote tels les nitrates et nitrites, ni certaines autres formes, oximes, hydrazine, hétérocycles.

L'expression « azote KJELDAHL » trouve son origine dans le nom de celui qui a mis au point la méthode universelle utilisée pour doser les fractions azotées concernées.

❖ *Azote minéral*

L'azote minéral est constitué par l'ammoniaque, les nitrites, les nitrates.

Azote organique

L'azote organique est essentiellement formé par des protéines, des polypeptides, de l'urée, des acides aminés.

❖ *Azote ammoniacal*

L'azote ammoniacal représente l'azote sous la forme NH_4^+

1.2. Relation entre les diverses fractions azotées

Compte tenu des définitions ci dessus, il existe les relations suivantes entre les différentes fractions azotées :

$$N_{\text{total}} = N_{\text{organique}} + N_{\text{minéral}} \quad (1)$$

$$N_{\text{KJELDAHL}} = N_{\text{organique}} + N_{\text{NH}_4^+} \quad (2)$$

$$N_{\text{minéral}} = N_{\text{NH}_4^+} + N_{\text{NO}_2^-} + N_{\text{NO}_3^-} \quad (3)$$

La relation (2) permet ainsi de déterminer l'azote organique à partir de la mesure de l'azote KJELDAHL et de l'azote ammoniacal.

On a en effet :
$$N_{\text{organique}} = N_{\text{KJELDAHL}} - N_{\text{NH}_4^+} \quad (4)$$

Nota : L'expression « azote total » est parfois employée pour définir ce qui correspond en fait à « l'azote KJELDAHL ». C'est là une mauvaise habitude, source d'erreurs regrettables.

2. Manipulation

Elle consiste à effectuer le dosage de l'azote KJELDAHL, puis celui de l'azote ammoniacal et d'en déduire l'azote organique à l'aide de la relation :

$$N_{\text{organique}} = N_{\text{KJELDAHL}} - N_{\text{NH}_4^+}$$

2.1. Dosage de l'azote kjeldahl

2.1.1. Principe

L'azote organique est minéralisé sous forme de sulfate d'ammonium par l'action conjuguée de l'acide sulfurique et de catalyseurs de minéralisation. Le schéma de la réaction est le suivant :



Les ions NH_4^+ qui résultent de cette minéralisation, ainsi que ceux qui préexistaient dans l'eau, sont transformés ensuite en ammoniac par une lessive de soude.



L'ammoniac est alors entraîné par un courant de vapeur vers une solution de piégeage où il pourra être dosé par simple acidimétrie.



2.1.2. Produits, matériel et instrumentation

❖ Produits

- Catalyseur de minéralisation ;
- Acide sulfurique concentré (produit dangereux) ;
- Solution d'acide borique agent anti moussant ;
- Solution d'acide sulfurique 0,1 N ;
- Lessive de soude à 300 g/l (produit dangereux) ;
- Indicateur coloré.

❖ Matériel

- Tubes de minéralisation ;
- Burette de 25 ml ;
- Pipettes de 10 et 25 ;
- Jaugé de 100 ml ;

- Eprouvettes de 10 et 100 ml ;
- Béchers ;
- Billes de verre ;
- Agitateur magnétique.

❖ *Instrumentation*

- Unité de distillation
- Digesteur

2.1.3. Mode opératoire

Mettre le digesteur sous tension dès l'arrivée au laboratoire.

2.1.3.1. Préparation de l'échantillon

On préparera simultanément trois prises d'essais du même échantillon.

Introduire successivement dans chaque tube de minéralisation :

- Environ 3 g de catalyseur ;
- 100 ml d'échantillon à l'éprouvette ;
- 10 ml d'acide sulfurique concentré, à l'éprouvette et avec précaution ;
- Quelques gouttes d'anti moussant ;
- Quelques billes de verre.

2.1.3.2. Minéralisation

- Placer les tubes dans les loges du digesteur ;
- Raccorder les tubes au collecteur ;
- Mettre en marche la trompe à eau reliée au collecteur ;
- Agir sur le rhéostat de telle sorte que l'ébullition soit sans excès ;
- Augmenter légèrement la puissance de chauffe, dès que l'eau a disparu et qu'il ne reste pratiquement plus que l'acide ;
- Laisser la minéralisation se faire durant 45 m dès l'apparition des fumées blanches ;
- Eteindre le digesteur à l'issue de ce laps de temps ;
- Saisir le collecteur avec la pince prévue à cet usage et déposer avec précaution les tubes sur le portoir ;
- Laisser refroidir puis retirer le collecteur ;
- Dissoudre de nouveau le précipité au cas où il apparaîtrait, en y ajoutant doucement un peu d'eau distillée.

Attention : *Au cours de cette opération dangereuse, il s'agit de l'addition d'eau à un acide concentré. Pour ce faire, il est impératif d'orienter le tube vers une direction ne présentant aucun risque pour vous et vos voisins.*

2.1.3.3. Distillation

La mise en route de l'appareil doit être effectuée en présence du moniteur qui effectuera les réglages éventuels et en respectant scrupuleusement l'ordre des séquences suivant :

❖ *Préparation de la distillation*

- Ouvrir le robinet d'eau et vérifier que le débit est d'environ 11/mn ;
- Mettre l'appareil sous tension ;
- Vérifier que le vase intermédiaire est vide, sinon ouvrir le robinet de vidange et le refermer lorsque l'opération est effectuée ;
- Mettre une ou deux gouttes de phénophtaléine dans chacun des tubes échantillons ;
- Positionner un tube sur son support et veiller à ce que le flexible en PTFE soit immergé d'au moins 1 cm dans la solution;
- Ajouter éventuellement avec précaution, un peu d'eau;
- Obturer le tube avec le bouchon de raccord et poser le tube sur le plateau basculant;
- Placer un erlenmeyer contenant 25 ml d'acide borique (éprouvette) sur le socle de réception;
- Introduire dans l'erlenmeyer quelques gouttes d'indicateur coloré;
- Ajouter la quantité d'eau distillée nécessaire pour que le tube soit au contact de la solution d'acide borique;
- Introduire doucement environ 50 cm³ de soude à l'acide du robinet marqué « NaOH »;
- Refermer le robinet.

Note : *En général la solution contenue dans le tube à distiller vire au rose, couleur de la phénophtaléine en milieu basique. Cette couleur peut cependant disparaître au début, puis réapparaître au cours de la distillation. Si la quantité de soude introduite n'est pas suffisante, le milieu restera acide et la coloration rose ne se manifesterait pas !*

❖ *Distillation proprement dite*

- Mettre en marche la distillation en agissant sur le robinet marqué « distillation » ;
- Observer que la solution contenue dans l'erlenmeyer vire rapidement au vert ;
- Recueillir environ 100 à 200 ml de distillat ;
- Retirer l'erlenmeyer ;
- Rincer le flexible d'un jet de pissette et recueillir les eaux de rinçage ;
- Fermer le robinet « distillation » ;
- Observer, dans les secondes qui suivent, l'aspiration du contenu du tube de distillation dans le vase intermédiaire ;
- Retirer le tube de distillation avec un gant d'amiante et le déposer sur son portoir ;
- Actionner le robinet « vidange » pour éliminer le contenu du vase intermédiaire ;
- Rincer le flexible en PTFE, l'appareil est prêt pour une nouvelle distillation.

2.1.3.4. Dosage

Schéma

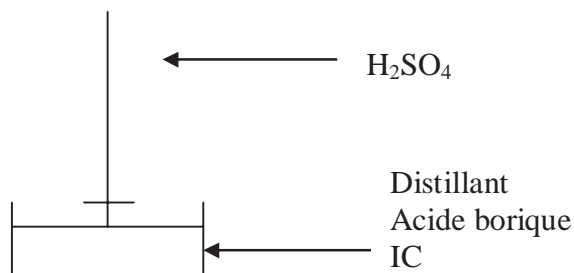


Figure 1 : Dispositif de dosage ammoniacal

Protocole

- Titrer le contenu de l'erlenmeyer par H_2SO_4 à 0,1 N jusqu'à ce que la solution verte revienne à sa couleur initiale ;
- Noter V_1 le volume d'acide utilisé ;
- Vider et rincer l'erlenmeyer ;
- Introduire 25 ml d'acide borique (indicateur coloré) dans l'erlenmeyer, et procéder au même dosage que pour le distillat ;
- Noter V_0 le volume d'acide utilisé pour obtenir le changement de coloration, V_0 correspond à l'ammoniac éventuellement apporté par le tampon borique ;
- Noter $(V_1 - V_0)$ représente le volume d'acide utilisé pour neutraliser le seul ammoniac libéré par l'échantillon après minéralisation.

❖ Expression des résultats

$$\text{On a : } N_1 * (V_1 - V_0) = N_2 * V_2 \quad (\text{Eq. 13})$$

$$N_2 = \frac{N_1 * (V_1 - V_0)}{V_3} \quad (\text{Eq. 14})$$

Avec : $(V_1 - V_0)$ = volume d'acide nécessaire à la neutralisation ;

N_1 = normalité de l'acide ;

V_2 = volume de a prise d'essai (100 ml) ;

N_2 = normalité de la solution d'ammoniac.

$$\text{L'azote en mg/l s'exprime alors par } T_2 \text{ mg/l} = N_2 \cdot 1000 \cdot 14 \quad (\text{Eq. 15})$$

2.2. Dosage de l'azote ammoniacal

2.2.1. Principe

Il est rigoureusement identique à celui du dosage de l'azote KJELDAHL si ce n'est que l'on ne procède pas à la minéralisation.

2.2.2. Mode opératoire

On préparera simultanément trois prises d'essais du même échantillon. Introduire 100 ml de l'échantillon dans chaque tube de distillation et reprendre toutes les étapes de (2.1.3.2) à (2.1.3.4).

$$N_1 \cdot (V_1' - V_0) = N_3 \cdot V_3 \quad (\text{Eq. 16})$$

$$N_3 = \frac{N_1 \cdot (V_1 - V_0)}{V_3} \quad (\text{Eq. 17})$$

$$T_3 \text{ mg/l} = N_3 \cdot 1000 \cdot 14 \quad (\text{Eq. 18})$$

Avec : V_1' = volume d'acide utilisé pour le distillat
 $(V_1' - V_0)$ = volume d'acide nécessaire à la neutralisation de NH_4^+ initialement présent sous cette forme dans l'échantillon
 N_1 = normalité de l'acide
 V_3 = volume de la prise d'essai (100ml)
 N_3 = normalité de la solution d'ammoniac

2.3. Dosage de l'azote organique

$$N_{\text{organique}} = N_{\text{KJELDAHL}} - N_{\text{NH}_4^+} \quad (\text{Eq. 19})$$

$$T_{\text{organique}} \text{ ml/l} = T_2 - T_3 \quad (\text{Eq. 20})$$

2.4. Conseils pour la manipulation

On aura intérêt à mettre en route simultanément et le plus rapidement possible, l'ensemble des minéralisations. L'azote ammoniacal sera dosé durant la minéralisation des échantillons.

V. DOSAGE DES NITRITES

1. Définition

Les nitrites sont les sels de l'acide nitreux. L'acide nitreux est un acide instable de formule HNO_2 . La formule de l'ion nitrite est NO_2^- . La contamination des eaux souterraines et superficielles par les nitrates est un problème rencontré de plus en plus fréquemment. Les nitrates se transforment en nitrites et éventuellement en nitrosamines au niveau du tube digestif. La présence de nitrites dans le sang empêche l'hémoglobine de fixer convenablement l'oxygène et entraîne ainsi des risques de méthémoglobinémie aiguë. En outre, les nitrites sont très toxiques pour les poissons et souvent mortels. C'est la raison pour laquelle la teneur en nitrites dans l'eau potable est réglementée et, indirectement celle des nitrates en raison de leur capacité à se transformer en nitrites.

Les concentrations guide et maximale admissibles dans les eaux destinées à la consommation humaine sont respectivement de 0,1 mg/l et 1 mg/l en nitrites. Une concentration à 1 mg/l est signe de pollution. Il convient alors de réaliser une analyse microbiologique. Compte tenu de la réutilisation des eaux usées en agriculture et/ou en pisciculture, il est aussi important de déterminer la teneur en nitrites dans les eaux usées.

Les nitrites sont dosés par spectrophotométrie à 520 nm après avoir formé un complexe coloré avec la N-[naphtyl-1] éthylène diamine.

2. Principe

On réalise la diazotation de la sulfanilamide par NO_2^- en milieu acide et en présence de la N-naphtyl éthylène diamine. Il se produit alors une réaction de copulation conduisant à la formation d'un complexe coloré pourpre permettant un dosage colorimétrique.

La lecture des densités optiques est effectuée pour $\lambda = 543 \text{ nm}$.

3. Produits, matériel et instrumentation

❖ *Produits*

- Solution de sulfanilamide à 1% dans HCl 10% ;
- Solution de di chlorhydrate de N-1 naphtyl éthylène diamine à 0.1% ;
- Solution mère étalon de nitrites à 100 mg/l.

❖ *Matériel*

- Fioles jaugées de 100 ml ;
- Fioles jaugées de 50 ml ;
- Pipettes jaugées de 10 ml ;
- Burette de 50 ml, pince et statif ;
- Pipette graduée de 10 ml ;

❖ *Instrumentation*

- Photocolorimètre et sa cuve.

4. Mode opératoire

4.1. Préparation d'une solution fille à 100 mg/l de nitrites

- Prélever 10 ml à l'aide d'une pipette jaugée de la solution mère à 100 mg/l ;
- Introduire ces 10 ml dans une fiole jaugée de 100 ;
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée ;
- Boucher la fiole et bien mélanger ;
- Vérifier qu'on a ainsi réalisé une solution fille F_1 à 10 mg/l de nitrites ;
- Rincer la pipette d'abord avec de l'eau distillée puis avec la solution précédente ;
- Introduire 10 ml de F_1 dans une seconde fiole jaugée de 100 ml ;
- Compléter à 100 ml avec de l'eau distillée ;
- Boucher la fiole et bien mélanger ;
- Vérifier qu'on a ainsi réalisé une solution fille F_2 à 5 mg/l de nitrites.

4.2. Préparation de la gamme étalon

Introduire dans une série de fioles jaugée de 50 ml, les solutions suivantes :

Tableau 3 : Volumes des réactifs à considérer pour la préparation de la gamme étalon

N° de fioles	T	1	2	3	4	5
Solution F_2	0	1	2.5	5	7.5	10
Eau distillée			Compléter à 50 ml			
Correspondance mg/l de nitrites	0	0.02	0.05	0.1	0.15	0.2

4.3. Développement de la coloration

- Reprendre les diverses fioles T, 1, 2, 3, 4, 5
- Introduire l'échantillon dans une fiole de 50 ml, jusqu'au trait de jauge. Soit E cette fiole.
- Ajouter à chacune des fioles en respectant le protocole suivant :

Tableau 4 : Volumes des réactifs à considérer

N° de fioles	T	1	2	3	4	5	E
Sulfanilamide				1 ml			
			Agiter vigoureusement et attendre 5 mn				
N – 1 naphtyléthylène diamine				1 ml			
			Bien mélanger, attendre 10 mn				

5. Mesures et résultats

❖ *Mesure*

- Afficher 543 nm sur le photolorimètre ;
- Remplir la cuve avec le contenu de la fiole T ;
- Annuler la densité optique de T ;
- Mesurer la densité optique des solutions 1, 2, 3, 4, E.

❖ *Résultats*

- Tracer la courbe d'étalonnage $D = f(c)$
- Reporter sur la courbe d'étalonnage la densité optique de l'échantillon,
- Déduire la concentration en nitrites.

6. Travail à effectuer

- Préparer la gamme étalon et les échantillons ;
- Effectuer les mesures permettant de tracer la courbe d'étalonnage et se servir de cette dernière pour doser les nitrites présents dans les échantillons.

VI. MESURE DES M.E.S (Matières en suspension)

1. Définition

Les matières en suspension (MES) constituent l'ensemble des particules minérales et/ou organiques présentes dans une eau naturelle ou polluée. Elles peuvent être composées de particules de sable, de terre et de sédiment arrachées par l'érosion, de divers débris apportés par les eaux usées ou les eaux pluviales très riches en MES, d'êtres vivants planctoniques (notamment les algues). Elles correspondent à la concentration en éléments non dissous d'un échantillon.

L'abondance des matières en suspension dans l'eau favorise la réduction de la luminosité et abaisse la production biologique du fait, en particulier, d'une chute de l'oxygène dissous consécutive à une réduction des phénomènes de photosynthèse.

2. Principe

Les MES s'obtiennent soit par filtration des effluents peu chargés soit par centrifugation des solutions, séchage jusqu'à obtenir un résidu sec.

Pour le suivi de la station du CREPA, la détermination des MES se fera par filtration sur filtre en fibres de verre compte tenu de l'origine domestique des effluents. La mesure des MES par filtration repose sur le principe de la double pesée : un volume d'eau est filtré sur une membrane (préalablement pesée à vide) de 1,5 microns et les résidus sur cette dernière sont pesés. Le rapport de la différence de masse sur le volume d'eau filtré donne la concentration des MES en milligramme/litre.

3. Appareillage et verrerie

- Equipement de filtration sous vide ;
- Filtres en microfibres de verre Wattman GF/C (\varnothing 47mm) ;
- Fioles jaugées ou éprouvettes graduées ;

4. Réactifs

Ce protocole de détermination n'utilise pas de réactifs.

5. Mode opératoire

- Prendre une membrane GFC et la marquer avec précaution pour ne pas l'abîmer ;
- Peser la membrane et noter sa masse à vide M_0 ;
- Placer la membrane sur la rampe de filtration ;
- Bien agiter l'échantillon ;
- Prélever un volume de l'échantillon et le transvider sur la membrane ;
- Procéder à la filtration : le volume filtré ne doit pas dépasser 1 litre et la filtration et ne doit pas durer plus d'une demie heure.
- Récupérer la membrane après la filtration, puis la placer dans une étuve à 105°C pendant 1h30 mn pour enlever l'excès d'eau ;

- Peser de nouveau la membrane, après séchage, puis noter sa masse M_1 .

6. Expression des résultats

Le rapport entre la différence des masses et le volume filtré donne la concentration de matières en suspension dans l'échantillon. On applique la formule suivante :

$$C_{\text{MES}} = \frac{M_1 - M_0}{V} \quad (\text{Eq. 21})$$

C_{MES} : concentration des MES en mg/l ;

M_0 : masse de la membrane avant filtration ;

M_1 : masse de la membrane après filtration ;

V : volume d'échantillon filtré.

VII. MESURE DE LA DCO (Demande Chimique en Oxygène)

1. Définition

La dégradation des matières organiques (d'hydrates de carbone, de matières protéiques, d'acides aminés, de lipides et autres substances de réserves) déversées dans les cours d'eau entraîne une consommation de l'oxygène dissout dans l'eau. Cela se fait au détriment des organismes vivants et peut entraîner ainsi l'asphyxie du milieu. La pollution par les matières organiques est provoquée par les rejets industriels (industries chimiques, pétrolières, agro-alimentaires, ...) et les rejets des populations urbaines. L'importance de cette pollution dans un effluent peut être évaluée par la demande chimique en oxygène (DCO).

La DCO permet d'apprécier la concentration en matières organiques ou minérales, dissoutes ou en suspension dans l'eau, au travers de la quantité d'oxygène nécessaire à leur oxydation chimique totale. Ainsi, par la mesure de la DCO, on pourra évaluer la charge polluante d'une eau usée en matières organiques avant et après un traitement physique, chimique ou biologique afin de contrôler le fonctionnement d'une STEP et l'activité des microorganismes.

2. Principe

Dans des conditions opératoires bien définies, certaines matières contenues dans l'eau sont oxydées par le dichromate de potassium en milieu acide et en présence de catalyseurs. Un agent masquant permet d'éviter l'interférence éventuelle des chlorures.

L'excès de dichromate introduit est dosé par un réducteur, le sulfate ferreux, on peut ainsi remonter à la quantité de dichromate consommé par les matières oxydables. Un indicateur approprié permet de détecter la fin du dosage.

Les réactions peuvent être schématisées comme suit :

- ❖ *Oxydation des substances (s*) présentes dans l'eau*



- ❖ *Intervention d'un agent masquant*

Pour éviter l'oxydation des ions chlorures en chlore, on utilise le sulfate de mercure (II) qui complexe les ions Cl^- :



- ❖ *Réaction de dosage*



3. Produits et matériel

❖ Produits

- Acide sulfurique concentré $d = 1,83$ g/l (dangereux) ;
- Acide sulfurique dilué 4 M ;
- Solution de sulfate d'argent dans l'acide sulfurique concentré, (dangereux) ;
- Solution de sulfate de fer d'ammonium environ 0,12 M ;
- Sulfate de mercure en cristaux ;
- Solution de dichromate de potassium 0,04 M ;
- Solution de ferroïne.

Matériel

- Dispositif à reflux ;
- Ballons de 250 ml ;
- Pipette jaugée de 5 ml ;
- Burette de 25 ml ;
- Eprouvette de 10 ml et de 20 ml ;
- Rampe chauffante ;
- Agitateur magnétique.

4. Mode opératoire

Il est nécessaire, avant d'effectuer la détermination de la DCO proprement dite, de vérifier le titre de la solution ferreuse et de procéder à un essai à blanc.

4.1. Vérification du titre de la solution ferreuse

Compte tenu de l'extrême oxydabilité de Fe^{++} , cette vérification doit se faire chaque jour.

❖ Schéma

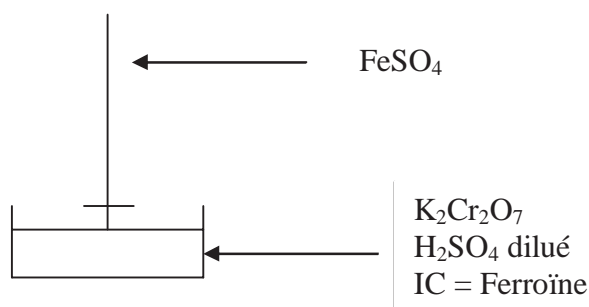


Figure 2 : Dispositif de dosage de la solution ferreuse

❖ *Protocole*

- Introduire 10 ml de solution de dichromate dans un bécher à l'aide d'une pipette ;
- Compléter à environ 100 ml avec la solution d'acide sulfurique diluée ;
- Ajouter avec la solution ferreuse jusqu'à passage du mélange à la coloration rouge violacé.
Soit V_1 le volume de solution ferreuse utilisée.

❖ *Expression des résultats*

Au cours de la réaction redox, on assiste aux modifications suivantes des degrés d'oxydation :



Donc : Une solution molaire en $\text{Cr}_2\text{O}_7^{--}$ correspond à 6 N et une solution molaire en Fe^{++} correspond à 1N.

Soit : $N_1 =$ normalité de Fe^{++} ,
 $V_1 =$ volume de solution ferreuse utilisé
 $N_2 =$ normalité de la solution de dichromate, soit $0.04 \times 6 = 0.24 \text{ N}$
 $V_2 =$ volume de dichromate

On a : $N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$ (Eq. 22)

$$N_1 = \frac{N_2 \cdot V_2}{V_1} \quad (\text{Eq. 23})$$

D'où $N_1 = \frac{0.24 \times 10}{V_1} = \frac{2.4}{V_1}$ (Eq. 24)

4.2. Essai a blanc

Il a pour but d'évaluer la consommation de dichromate par les réducteurs qui pourraient se trouver dans le mélange et qui ont pour origine un manque de pureté des réactifs et l'utilisation d'une verrerie douteuse.

Effectuer cet essai parallèlement à la détermination de la DCO, voir ci dessous (B – 3 – 3), mais en remplaçant la prise d'essai par 10 ml d'eau distillée.

On appellera V_B le volume de solution ferreuse utilisé pour obtenir le changement de coloration

4.3. Détermination de la DCO

4.3.1. Préparation de l'échantillon

Homogénéiser l'échantillon si besoin est et introduire dans l'ordre, dans un ballon de 250 ml :

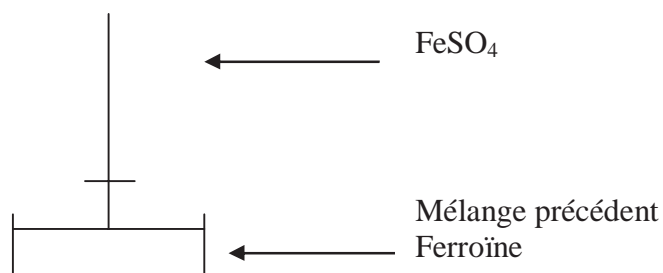
- 10 ml d'échantillon à l'aide de l'éprouvette; rincer l'éprouvette d'un jet de pissette d'eau distillée, transvaser les eaux de lavage dans le ballon;

- Quelques billes de verre ou équivalent ;
- Une pincée de sulfate mercurique, environ 0.4 g;
- 5 ml de dichromate à la pipette;
- 15 ml d'acide sulfurique concentré (dangereux), à l'aide d'une éprouvette ; procéder à cette opération avec précaution et en agitant doucement le vase d'un mouvement circulaire.

Il est souhaitable de poser au cours de toute l'opération le ballon sur un lit de glace afin d'éviter que le dégagement de chaleur n'entraîne la disparition des matières volatiles. (On peut éventuellement refroidir le ballon sous l'eau du robinet).

- Relier le réfrigérant au ballon et l'alimenter avec l'eau du robinet ;
- Porter à ébullition sous reflux pendant 2 h ; l'ébullition doit être régulière, sans soubresauts ni excès ;
- Laisser refroidir le ballon ;
- Entraîner au fond du ballon, par un jet de pissette, les dépôts qui se sont formés sur la paroi interne ;
- Retirer le ballon du dispositif de chauffage et du réfrigérant ;
- Compléter à environ 75 ml avec de l'eau distillée et laisser refroidir à la température ambiante.

4.3.2. Dosage



❖ Schéma

s

Figure 3 : Dispositif de dosage de la DCO

❖ Protocole

- Transvaser le contenu du ballon dans un erlenmeyer de 250 ;
- Rincer le ballon avec le minimum d'eau distillée et joindre les eaux de lavage au mélange ;
- Introduire quelques gouttes de ferroïne dans l'erlenmeyer ;
- Titrer par la solution ferreuse jusqu'à ce que la coloration bleu vert passe au brun rouge.
- Soit V_e le volume de solution ferreuse utilisée.

❖ *Expression des résultats*

La DCO exprimée en mg/l est donnée par la formule :

$$\text{DCO mg/l} = \frac{800 \cdot N_1 \cdot (V_B - V_e)}{V_0} \quad (\text{Eq. 25})$$

Avec :

- V_B = volume de solution ferreuse utilisé pour l'essai à blanc
- V_e = volume de solution ferreuse utilisé pour l'échantillon
- V_0 = volume de la prise d'essai
- N_1 = normalité de la solution ferreuse

4.3.3. Domaine d'application

La méthode est applicable aux eaux dont la DCO est comprise entre 30 et 700 mg/l. La concentration en chlorure ne doit pas dépasser 2000 mg/l. Une dilution de l'échantillon s'impose dans le cas où ces limites maxima seraient atteintes.

5. Conseils pour la manipulation

Dès l'arrivée au laboratoire, on mettra la rampe chauffante sous tension au 2/3 de sa puissance. Il est recommandé de préparer en double :

- Chaque essai à blanc ;
- Chaque échantillon pur ;
- Chaque échantillon dilué si une dilution semble s'imposer (voir moniteur).
- La vérification de la solution ferreuse se fera durant l'ébullition. En aucun cas la rampe chauffante ne devra rester sans surveillance !

VIII. MESURE DE LA DBO (Demande biochimique en Oxygène)

1. But

La demande biochimique en oxygène (DBO) est une expression pour indiquer la quantité d'oxygène qui est utilisée pour la destruction de matières organiques décomposables par des processus biochimiques. La détermination de la DBO sert à évaluer la concentration des polluants organiques dans les entrées et sorties de station d'épuration biologique, c'est-à-dire à mesurer le rendement.

La mesure de la DBO₅ est faite selon la méthode manométrique basée sur le principe du respiromètre de WARBURG au cours duquel la respiration de la biomasse est directement mesurée par un appareil. Un volume d'échantillon est placé dans des flacons à bouchon rodé.

2. Principe de la méthode manométrique

Une quantité d'eau est versée dans une bouteille d'incubation de 300 ml, reliée à un manomètre à mercure ou fermée avec un bouchon muni d'un capteur de pression (oxytop). Le volume choisi est fonction de la gamme de mesures souhaitée. L'appareil de mesure, de type IS 602, est placé dans un réfrigérateur maintenu à 20°C. On suit ensuite, en fonction du temps, soit tous les jours pendant 5 jours pour la DBO₅, la consommation d'oxygène, qui se traduit par une diminution de la pression d'air. On procède enfin à la correction de la mesure par un facteur correctif qui dépend de la quantité d'échantillon prélevée et de la gamme de mesure souhaitée.

L'oxydation des matières organiques provoque la formation de CO₂ qui sera piégé par une solution de KOH. Ainsi il se développe une dépression dans la bouteille.

L'adjonction de 1 allyle 2 thio-urée : C₄H₈N₂S permet d'inhiber la nitrification car l'oxydation des dérivés ammoniacaux et des nitrites en nitrates absorbe également de l'oxygène. Cette amine joue un rôle d'inhibiteur. A introduire pour la mesure des eaux de sortie.

3. Mode opératoire

- Mesurer la quantité désirée (cf. tableau ci après) avec le ballon jaugé de trop-plein et verser dans la bouteille propre ;
- Introduire l'agitateur magnétique dans chaque bouteille ;
- Ajouter une pincée de l'allyle thio-urée ;
- Mettre 2 pastilles d'hydroxyde de potassium dans chaque bouchon intérieur (noir) avec deux pincettes ;
- Visser sans fermer hermétiquement le bouchon ;
- Mettre sur le système d'agitation à 20 °C ;
- Laisser s'établir l'équilibre pendant 30 mn et fermer hermétiquement le bouchon ;
- Relever les valeurs après 5 jours (système Oxytop) ;
- Utiliser les mesures des autres groupes et déterminer la précision des mesures.

Il est recommandé d'effectuer le double de chaque dosage (selon la disponibilité du matériel de mesure).

4. Paramètres influençant la mesure

4.1. Quantité à analyser

La demande biochimique en oxygène pour une analyse dépend de la charge en substances organiques. La mesure de la DBO₅ peut être évaluée à environ 80 % de la DCO.

Tableau 5 : Facteur de conversion de la DBO₅ en fonction du volume de prise

Portée de mesure	Quantité	Facteur
0 – 40	432 ml	1
0 – 80	365 ml	2
0 – 200	250 ml	5
0 – 400	164 ml	10
0 – 800	97 ml	20
0 – 2000	43.5 ml	50
0 – 4000	22.7 ml	100

La valeur réelle est calculée comme suit :

$$\text{DBO}_5 \text{ (mgO}_2\text{/l)} = \text{Valeur lue} * \text{facteur} \quad (\text{Eq. 26})$$

Mesurer les quantités pour faire l'analyse avec le ballon jaugé de trop plein et pour prendre les quantités exactes.

4.2. Quantité à mesurer

- Eaux brutes 164 ml ;
- Eaux décantées 250 ml ;
- Eaux épurées 432 ml.

4.3. Valeur du pH

Les valeurs de pH les plus favorables aux procédés biologiques se trouvent entre 6.5 et 7.5

4.4. Température

L'échantillon doit être introduit dans l'enceinte à 20 °C exactement.

5. Méthode de dilution

On prépare des échantillons convenables de l'eau résiduaire à examiner avec une eau de réseau (eau stabilisée à 20°C pendant 48h). On mesure la variation de l'oxygène dissous au temps 0 et au temps 5 jours. Les meilleurs résultats sont obtenus pour une variation de 35 à 60%.

5.1. Mode opératoire

- Faire les dilutions adéquates avec de l'eau pure ;
- Mettre dans le flacon une pincée d'allyle thio-urée pour éviter la nitrification (eau sortie) ;
- Remplir le flacon à ras bord avec la dilution;
- Mettre l'extenseur de volume sur le flacon;
- Introduire la sonde avec le système d'agitation;
- Mettre le flacon avec la sonde sur l'agitateur magnétique;
- Agiter jusqu'à stabilisation de la valeur de la pO_2 ;
- Noter cette valeur ;

Après 5 jours à l'obscurité et à 20°C, mesurer la concentration de l'oxygène dissous.

5.2. Volume de la prise d'essai

Le volume de la prise d'essai est fonction de la valeur de la DCO. Pour les eaux urbaines, on utilise la formule suivante : $\text{Prise d'essai maximale} = 4000/\text{DCO} \text{ (mgO}_2\text{/l)}$

On réalise deux prises d'essai différentes : une max et une mini (la moitié de la prise max)

5.3. Calcul de la DBO

La relation suivante permet de calculer la valeur de la DBO en mgO_2 / l :

$$\text{DBO}_5 = ((P_0 - P_5) - (K_0 - K_5)) * V / E$$

(Eq. 27)

- Avec :
- P_0 concentration d' O_2 dans la dilution au début de l'essai;
 - P_5 concentration d' O_2 dans la dilution à la fin de l'essai (après 5 jours);
 - K_0 concentration d' O_2 dans l'eau de dilution au début de l'essai
 - K_5 concentration d' O_2 dans l'eau de dilution à la fin de l'essai (après 5 jours);
 - V volume du flacon
 - E prise d'essai

Remarque : Les deux essais peuvent être faits avec la même dilution maximale. Le test avec l'eau n'est pas nécessaire si la consommation de l' O_2 est inférieure à 0.2 mg/l

6. Relation entre la DBO, la DCO et le COT

Lorsqu'on établit pour une eau des relations entre la DBO, la DCO et le COT (carbone Organique total), il faut tenir compte de certains facteurs qui peuvent modifier les corrélations.

Parmi ces facteurs, on peut noter que :

- Une partie de la DCO de certaines eaux industrielles est due à l'oxydation par le dichromate des ions ferreux, des sulfures, des sulfites, des composés azotés et d'autres composés minéraux.

- Certains composés sont totalement ou partiellement résistants à l'oxydation chimique et biologique et ne participent pas ainsi à la DCO ou à la DBO. Cependant la totalité du carbone organique est comptabilisée lors de la détermination du COT.
- La DBO est influencée par différents facteurs, sans effet sur la détermination de la DCO ou du COT, tels que le pH, l'adaptation des micro-organismes, le taux de dilution et les composés toxiques.

6.1. Rapport DCO/COT

On constate que le rapport DCO/COT est une indication du taux d'oxydation des produits organiques.

Par exemple : $\text{CH}_4 = \frac{\text{DCO}}{\text{COT}} = 5.33$ (produit avec un faible «taux d'oxydation»)

$$\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH} = \frac{\text{DCO}}{\text{COT}} = 2.86 \text{ (cas intermédiaire)}$$

$$(\text{COOH})_2 = \frac{\text{DCO}}{\text{COT}} = 0.67 \text{ (produit avec «taux d'oxydation» élevé)}$$

Pendant le traitement (biologique ou chimique), une diminution du rapport DCO/COT peut être observée. Ce fait peut s'expliquer par la transformation de la matière organique en composés intermédiaires sans conversion appréciable en CO_2 , une réduction de la DCO peut ne pas entraîner une diminution de la COT.

6.2. Rapport DBO/DCO

Considérons en premier lieu un composé totalement biodégradable tel que le glucose.

Dans ce cas (supposant que $\text{DCO} = \text{DBO}$) $\frac{\text{DBO}_\infty}{\text{DCO}} \approx 0.9$

Dans le cas où le composé ne serait pas biodégradable $\frac{\text{DBO}_\infty}{\text{DCO}} \approx 0$

Et pour le composé partiellement biodégradable $\frac{\text{DBO}_\infty}{\text{DCO}} \approx 0.2 - 0.4$

Pendant le traitement biologique, la diminution du rapport DBO/DCO est due au fait que la teneur en matière non dégradable représente une fraction plus importante de la DCO dans l'eau traitée que dans l'eau brute. La valeur de ce rapport pour des eaux domestiques non traitées varie de 0.4 à 0.8.

6.3. Rapport DBO_5/COT

Alors qu'il est difficile de relier la DBO_5 au COT pour les eaux industrielles, le rapport DBO_5/COT pour les eaux usées urbaines varie de 1.0 à 1.6.

6.4. Rapport DCO/DBO₅

Le rapport DCO/DBO₅ a une importance pour la définition de la chaîne d'épuration d'un effluent. En effet, une valeur faible du rapport DCO/DBO₅ implique la présence d'une grande proportion de matières biodégradables et permet d'envisager un traitement biologique. Inversement, une valeur importante de ce rapport indique qu'une grande partie de la matière organique n'est pas biodégradable et, dans ce cas, il est préférable d'envisager un traitement physico-chimique.

Pour un effluent de décantation secondaire, le rapport $\frac{DCO}{DBO_5}$ est voisin de 1.5 (1.5-4).

IX. MESURE DES INDICATEURS DE POLLUTION FECALE

Les indicateurs de pollution fécale pris en compte dans cette partie sont uniquement les coliformes (dits coliformes totaux (CT)), les coliformes thermotolérants (CTT) et les streptocoques fécaux (SF).

Les méthodes utilisées pour la détermination des indicateurs de pollution fécale sont multiples. Les critères de choix d'une technique dépendent de l'origine, de la nature de l'eau à examiner (eau de forage ou de puits, eau trouble, eaux usées, etc.), des facteurs relatifs à la qualité des résultats et des facteurs relatifs au coût des analyses. Les méthodes classiques utilisées sont :

- La filtration sur membrane ;
- L'étalement ;
- L'incorporation en gélose ;
- La dilution en milieu liquide ou le Nombre le plus probable (NPP).

1. Méthodes par filtration sur membrane et par étalement

1.1. Méthode par filtration

La technique par filtration n'est pas appropriée pour des eaux usées brutes à cause de la charge bactérienne très élevée et de la teneur excessive en matières en suspension (MES) pouvant provoquer le colmatage de la membrane. Elle convient plutôt aux eaux très peu chargées en matières particulières telles que les eaux potables.

1.1.1. Principe

Le principe repose sur 4 étapes qui sont la filtration, la culture, l'incubation et le dénombrement des colonies.

- La filtration d'un volume donné d'échantillon sur une membrane de cellulose stérile de 0.45 μ de porosité. La prise d'essai maximale est fonction de la filtrabilité de l'eau et de la porosité des membranes utilisées. En général, une prise de 100 ml est suffisante avec une membrane dont les pores ont un diamètre moyen de 0.45 μ .

Nota : Il s'agit d'utiliser une quantité d'échantillon ou une dilution de façon à obtenir moins de 100 unités formant colonies (ufc) sur une membrane de 47 ou 50 mm de diamètre.

- le dépôt de la membrane sur un milieu gélosé sélectif ;
- l'incubation aux températures et temps convenables ;
- le dénombrement des ufc dans le volume de référence choisi.

1.1.2. Filtration :

❖ Schéma

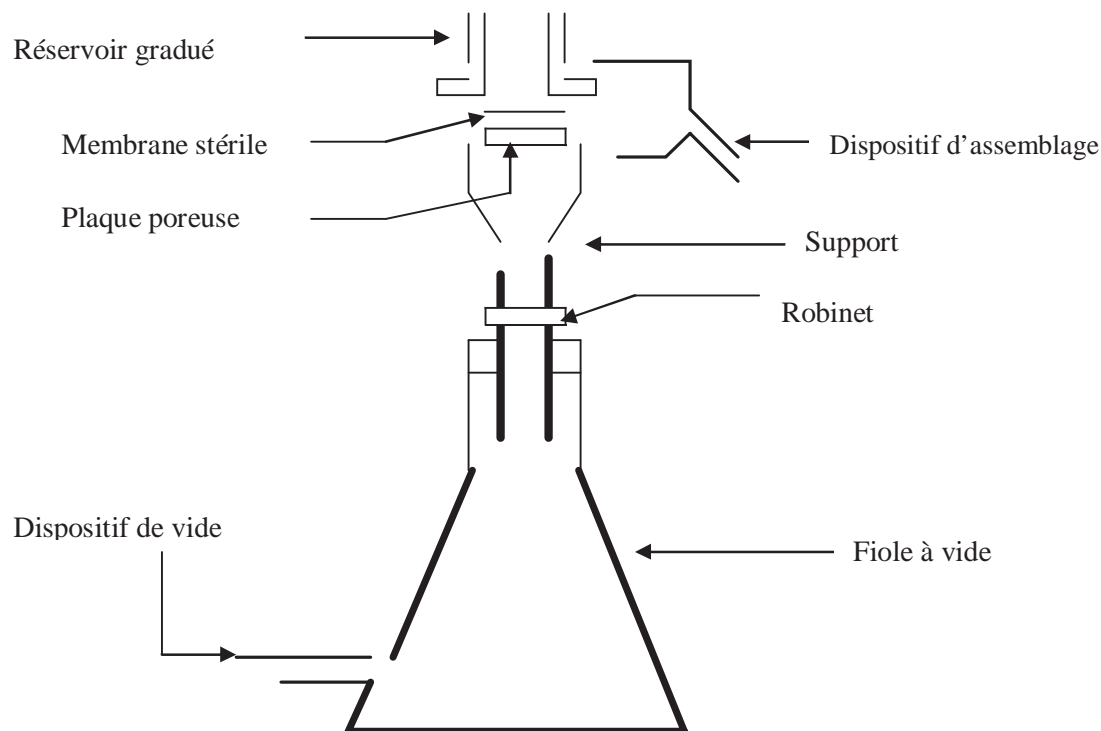


Figure 4 : Dispositif de filtration

❖ Préparation du dispositif et technique de filtration

- Relier le dispositif de filtration à une source de vide (pompe ou trompe à eau) ;
- Brancher la pompe à une prise de courant ;
- Ouvrir le robinet du dispositif de filtration ;
- Enlever le réservoir et stériliser à la flamme la surface du support poreux, ainsi que le réservoir ;
- Laisser refroidir en y versant de l'eau distillée et laisser la pompe aspirer ;
- Fermer le robinet et remettre le réservoir sur le support ;
- Placer, à l'aide d'une pince préalablement passée à la flamme puis refroidie, une membrane stérile (la tenir seulement par le bord extérieur) sur la base du support poreux ;
- Rincer à l'eau distillée stérile le réservoir et la membrane filtrante tout en maintenant l'arrivée fermée ;
- Homogénéiser bien l'échantillon et verser ou transférer à l'aide d'une pipette un volume V connu d'échantillon ;
- Ouvrir le robinet et faire un vide pour filtrer lentement l'eau à travers la membrane ;
- Refermer aussitôt le robinet après que tout l'échantillon ait été filtré ;

- Retirer le réservoir et ensuite la membrane et la déposer sur le milieu de culture.

Note : Faire attention en déposant la membrane pour ne pas emprisonner de bulle d'air entre celle-ci et le milieu. Si cela se produisait, soulever légèrement la membrane en la tenant par le bord et la redéposer très doucement pour éliminer la bulle d'air.

Pour différentes dilutions d'un même échantillon commencer toujours la plus forte dilution. Le réservoir peut être réutilisé sans désinfection entre 2 dilutions. Pour filtrer un autre échantillon, désinfecter ou rincer abondamment à l'eau distillée le réservoir et le support poreux.

1.2. Méthode par étalement

C'est une technique qui est utilisée pour l'analyse des eaux usées brutes et des eaux à forte charge bactérienne. Dans ce cas, des dilutions sont nécessaires car elle utilise de très faibles volumes à cause de la charge bactérienne souvent très élevée. La méthode par étalement n'a aucun sens pour les eaux de forage.

1.2.1. Principe

- Etalement en surface d'une prise d'essai de 0.1 à 0.5 ml sur un milieu gélosé ;
- Dilution de sorte que le nombre présumé de colonies formées soit compris entre 25 et 300 ;
- Incubation à température et temps convenables ;
- Dénombrement des colonies typiques ;
- Expression des résultats selon la formule en 1.5.

1.2.2. Etalement

- La technique requiert certaines précautions :
- Sécher au préalable, à l'étuve à 37°C, les milieux gélosés afin de faire évaporer l'eau de cristallisation ;
- Vérifier que la surface est complètement sèche sinon on obtient une « pâte de colonies » sur la boîte de pétri ;
- Déposer un volume donné d'échantillon bien homogénéisé à la surface de la gélose à l'aide d'une pipette graduée ;
- Etaler aussitôt et de façon uniforme à l'aide d'un étaleur en verre rodé sur toute la surface (utiliser 2 boîtes par dilution).

1.3. Incubation

L'incubation peut se faire en un ou deux temps selon les indications pour chaque microorganisme ou groupe de microorganismes : soit 2 à 4 h pour permettre la revivification des organismes en état de choc et ensuite incubation normale.

Au cours de l'incubation, il faut veiller à retourner les boîtesensemencées et étiquetées, et à les placer dans un incubateur selon les temps et températures indiqués pour chaque groupe de microorganismes recherchés.

1.4. Dénombrement ou comptage des colonies

Après incubation, les boîtes de pétri ou les membranes doivent être examinées immédiatement. On compte les colonies (ufc) en fonction des organismes recherchés sur les milieux sélectifs ou non, à l'aide d'un compteur de colonies ou à défaut d'un marqueur indélébile sur le revers de la boîte de pétri.

Note : S'il n'est pas possible de compter les colonies après incubation, les boîtes de pétri ou les membranes doivent être conservées à 4 ou 5°C durant de courtes périodes. Mais ceci entraîne souvent une modification de l'apparence (notamment la couleur) des colonies.

1.5. Expression des résultats

Chaque colonie est supposée provenir d'un seul microorganisme ou d'un amas de microorganismes. Le résultat est donc exprimé par le nombre d'unités génératrices de colonies dans la quantité de référence spécifiée d'échantillons (généralement 100 ml ou 1 ml), selon la formule ci-dessous :

$$N = \frac{\sum N}{(n_1 * v_1 * d_1) + (n_2 * v_2 * d_2) + \dots + (n_i * v_i * d_i)} \quad (\text{Eq. 28})$$

Avec : N = nombre d'unités génératrices (formant) de colonies dans le volume de référence

$\sum N$ = somme de toutes les colonies comptées dans les boîtes ou sur les membranes provenant des dilutions d_1, d_2, \dots, d_i ;

n_1, n_2, \dots, n_i = nombre de boîtes comptées pour les dilutions d_1, d_2, \dots, d_i ;

v_1, v_2, \dots, v_i = volumes de prise d'essai pour les dilutions d_1, d_2, \dots, d_i ;

d_1, d_2, \dots, d_i = dilutions utilisées pour les prises d'essai v_1, v_2, \dots, v_i ($d = 1$ pour un échantillon non dilué, $d = 0.1$ pour une dilution au 1/10, etc...).

V_s = la quantité de référence choisie pour exprimer la concentration de l'échantillon en microorganismes.

2. Méthode par ensemencement en milieu liquide ou du nombre le plus probable (NPP)

Elle est utilisée le plus souvent dans le cas des eaux troubles.

2.1. Principe

Le principe de la méthode NPP consiste à ensemencer de nombreuses prises d'essai d'un même échantillon et/ou de dilutions de celui-ci dans des tubes de milieu de culture liquide.

Les prises d'essai de l'échantillon ou des dilutions, sont donc incorporés dans une première série de tubes de milieu non véritablement sélectif : c'est le *test de présomption* (croissance ou non). Ce premier test est qualitatif et permet de conclure seulement à la présence ou à l'absence de microorganismes dans la prise d'essai.

On ensemence une deuxième série de tubes de milieu plus sélectif en repiquant les tubes ayant donné un résultat positif dans la première série : c'est le *test de confirmation*.

A partir de ces résultats, on estime la quantité de microorganismes après détermination du NPP.

❖ *Estimation du NPP*

On suppose que pendant l'incubation, chaque tube ayant reçu un ou plusieurs organismes avec l'inoculum présentera une croissance qui provoquera ou non des modifications caractéristiques dans le milieu. Le NPP ne peut être estimé qu'à partir du nombre de tubes positifs. La précision est la « force » de cette méthode et dépend du nombre de tubesensemencés : elle croît comme une fonction de la racine carrée du nombre de tubes utilisés.

2.2. Prise d'essai

Il faut veiller à ce que l'ajout de la prise d'essai ne modifie pas la composition du milieu au point de perturber de façon notable la croissance des microorganismes recherchés. Pour cela :

- des volumes inférieurs à 1 ml sont normalement ajoutés à des milieux dits simple concentration ;
- les prises d'essais comprises entre 1 et 50 ml sont ajoutées à des volumes égaux de milieu double concentration (par exemple, 10 ml d'échantillon sont ajoutés à 10 ml de milieu double concentration) ;
- des milieux plus concentrés peuvent être utilisés pour des quantités supérieures à 50 ml

2.3. Ensemencement

On utilise habituellement 3 ou 5 tubes dans chaque série pour chaque dilution. Au minimum, 3 séries successives de tubes doivent être utilisées bien que la précision augmente avec le nombre de tubes.

2.3.1. Ensemencement des milieux présomptifs

❖ *Milieu simple concentration*

- Prendre 3 tubes (16 mm * 160 mm) du même milieu présomptif simple concentration et transférer 1 ml d'échantillon dans chacun d'eux ;
- Transférer 1 ml d'échantillon de chaque dilution dans chacun des 3 tubes (16 mm * 160 mm) pour chacune des dilutions effectuées (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc.) ;
- Changer de pipette pour chaque dilution et bien mélanger par retournement plusieurs fois ;
- Faire incuber les tubesensemencés à l'étuve thermostatée et réglée à la température de 37°C durant 24 h ou 48 h ;
- Observer d'abord le changement de couleur ou non dans les tubes ;
- Observer ensuite le trouble dans le milieu, dû à la croissance des bactéries présentes ;
- Observer enfin la production de gaz traduite par le soulèvement de la cloche de Durham introduit dans le milieu (au moins 1/10 de la cloche devra être vide).

❖ *Milieu double concentration*

- prendre 3 tubes du milieu (20 mm * 200 mm) du milieu présomptif choisi ;
- transférer dans chacun des tubes 10 ml d'échantillon bien homogénéisé avec une pipette de 10 ml.

❖ *Incubation et lecture*

- Faire incuber les tubes ensemencés aux températures et temps convenables selon le microorganisme recherché.
- Procéder à la lecture, après le temps d'incubation, en considérant comme « positif » tous les tubes ayant présenté d'abord un trouble du à une croissance microbienne et ensuite ayant présenté les caractéristiques des germes recherchés (dégagement de gaz, dépôt, etc.).

2.3.2. Ensemencement des milieux confirmatifs

A partir de chaque tube de milieu présomptif ayant donné un résultat positif, ensemencer avec une anse bouclée ou une pipette pasteur les milieux confirmatifs.

❖ *Incubation et mesure*

Faire incuber selon les germes recherchés et considérer comme positifs les tubes présentant un trouble visible et les caractéristiques des microorganismes recherchés.

2.4. Expression des résultats

On recherche le nombre le plus probable (NPP) ; pour cela, il faut déterminer le nombre de tubes positifs correspondants à 3 dilutions consécutives. Ces dilutions sont choisies selon les règles suivantes :

i. Il existe une ou plusieurs dilutions révélant 3 tubes positifs

- Choisir la dilution la plus forte (celle contenant la plus faible concentration de l'échantillon) révélant 3 tubes positifs, ainsi que les deux plus fortes dilutions qui suivent immédiatement.
- Choisir les 3 plus fortes dilutions de la série (celles qui ont la plus faible concentration en échantillon) au cas où il aurait été préparé un nombre insuffisant de dilutions au-delà de la dilution la plus forte révélant 3 tubes positifs.

ii. Il n'existe aucune dilution révélant 3 tubes positifs

- Retenir la dilution correspondant à la plus forte concentration de l'échantillon et les deux dilutions qui suivent immédiatement.

iii. Cas particuliers

- Si un résultat positif est noté pour une dilution plus grande que la dernière ainsi choisie, il faut l'ajouter à celle-ci ;
- Si enfin, le nombre de tubes positifs est très réduit, choisir le nombre caractéristique de façon à ce que la dilution positive occupe le rang des dizaines.
- Le tableau n° 6, page suivante récapitule les différents cas cités.

Tableau 6 : Illustrations des règles pour le choix des dilutions

Dilutions	10 ⁰	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	Résultats	Cas cités	
nombre de tubes positifs	3	3	2	1	0	0	321	Premier point du cas i	
	-	3	3	3	3	0	330	Deuxième point du cas i	
	-	3	0	1	0	0	301		
	2	0	0	0	0		200		
		2	2	2	2	0		222	Cas ii
	-	3	3	2	1	2	323	Premier point du cas iii	
	-	-	0	1	0	0	010	Deuxième point du cas iii	

Il existe des tables NPP qui indiquent les combinaisons de résultats de tubes négatifs et positifs qu'il est probable de rencontrer. Le tableau ci-dessous donne des indices NPP par 100 ml d'échantillons et limites de confiance à 95% (avec 3 séries de 5 tubes contenant 10, 1, et 0.1 ml d'échantillon).

Tableau 7 : Indices NPP par 100 ml d'échantillons et limites de confiance à 95% (avec 3 séries de 5 tubes contenant 10, 1, et 0.1 ml d'échantillon).

Combinaisons de tubes positifs	NPP par 100ml	Limites de confiance à 95%		Combinaisons de tubes positifs	NPP par 100ml	Limites de confiance à 95%	
		Inf.	Sup.			Inf.	Sup.
0-0-0	< 2	-	-				
0-0-1	2	1.0	10	4-3-0	27	12	67
0-1-0	2	1.0	10	4-3-1	33	15	77
0-2-0	4	1.0	13	4-4-0	34	16	80
1-0-0	2	1.0	11	5-0-0	23	9.0	86
1-0-1	4	1.0	15	5-0-1	30	10	110
1-1-0	4	1.0	15	5-0-2	40	20	140
1-1-1	6	2.0	18	5-1-0	30	10	120
1-2-0	6	2.0	18	5-1-1	50	20	150
2-0-0	4	1.0	17	5-1-2	60	30	180
2-0-1	7	2.0	20	5-2-0	50	20	170
2-1-0	7	2.0	21	5-2-1	70	30	210
2-1-1	9	3.0	24	5-2-2	90	40	250
2-2-0	9	3.0	25	5-3-0	80	30	250
2-3-0	12	5.0	29	5-3-1	110	40	300
3-0-0	8	3.0	24	5-3-2	140	60	360
3-0-1	11	4.0	29	5-3-3	170	80	410
3-1-0	11	4.0	29	5-4-0	130	50	390
3-1-1	14	6.0	35	5-4-1	170	70	480
3-2-0	14	6.0	35	5-4-2	220	100	580
3-2-1	17	7.0	40	5-4-3	280	120	690
4-0-0	13	5.0	38	5-4-4	350	160	820
4-0-1	17	7.0	45	5-5-0	240	100	940
4-1-0	17	7.0	46	5-5-1	300	100	1300
4-1-1	21	9.0	55	5-5-2	500	200	2000
4-1-2	26	12	63	5-5-3	900	300	2900
4-2-0	22	9.0	56	5-5-4	1600	600	5300
4-2-1	26	12	65	5-5-5	?	-	-
					1600		

Source : www.caeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA700Ectm10.pdf

Note : Pour des raisons d'une mauvaise mise en œuvre de la technique, les tables peuvent ne pas donner les combinaisons probables. Dans ce cas, les valeurs NPP pour les combinaisons de réactions négatives et de réactions positives non indiquées dans les tables peuvent être calculées par l'application de la formule suivante :

$$NPP = \frac{\text{Nb de tubes} \cdot \text{volume de référence de l'échantillon (ml)}}{\text{volume d'échantillons} \cdot \text{volume d'échantillons}} \quad (\text{Eq. 29})$$

dans tous les tubes avec* dans tous les tubes avec
des réactions négatives des réactions positives

2.5. Mode de calcul

Le nombre d'indicateurs recherchés (coliformes et/ou de coliformes thermotolérants, streptocoques) par 100 ml d'échantillon est donné par l'expression suivante :

$$N = \frac{NPP}{T_x} \quad \text{(Eq. 30)}$$

Avec : N = nombre d'indicateurs recherchés

NPP = nombre le plus probable ;

T_x = taux de dilution correspondant à la dilution la plus forte retenue.

3. Milieux de cultures, températures et temps d'incubation

Les tableaux ci-dessous donnent les temps et températures d'incubation, les milieux de cultures selon les indicateurs et la méthode de recherche utilisée.

Tableau 8 : Temps, températures d'incubation et milieux de cultures des coliformes et coliformes thermotolérants en fonction des méthodes de recherche

COLIFORMES ET COLIFORMES THERMOTOLERANTS		
Méthodes de recherche	Temps et températures d'incubation	Milieux de culture
Filtration sur membrane	24h à 37°C pour les Coliformes	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose lactosée au TTC et au tergitol-7 • Gélose au laurylsulfate de sodium selon Afnor
	24h à 44°C pour les CTT	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose les Endo selon Standard Methods, américain • M-Endo médium (Gélose)
<i>Milieux présomptifs</i>		
Ensemencement en milieu liquide	30°C pendant 24h, en absence de résultats prolonger à 48 h pour les 2 germes	<ul style="list-style-type: none"> • bouillon de Mac CONKEY selon Merck n° 5396 • bouillon lactosé BCP (bromocrésol pourpre) de Pasteur, selon Afnor NF T 90-413/10/85
		<ul style="list-style-type: none"> • bouillon au sulfate de lauryl selon Merck n° 10266
<i>Milieux confirmatifs</i>		
Etallement en surface	24h ou 48h à 37°C pour les coliformes et 44 °C pour les CTT	<ul style="list-style-type: none"> • bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (B.L.V.B.B)
	16h à 24h à 37°C pour les coliformes et 44°C pour les CTT	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose Tergitol-7 + TTC ou équivalent

Tableau 9 : Temps, températures d'incubation et milieux de cultures des streptocoques fécaux en fonction des méthodes de recherche

STREPTOCOQUES FECAUX		
Méthodes de recherche	Temps et températures d'incubation	Milieux de culture
		<i>Milieux présomptifs : gélose-m pour entérocoques (Stanetz et Bartley)</i>
Filtration sur membrane et Etalement en surface	37°C pendant 48 h repiquage des colonies typiques sur milieu confirmatif à 37°C durant 24h et 48h	<ul style="list-style-type: none"> • Milieu de base selon Afnor • Milieu déshydraté complet selon Pasteur, code 64 937 • Milieu complet selon Merck n° 5262 Milieux confirmatifs <ul style="list-style-type: none"> • Gélose biliée à l'esculine selon Afnor • Milieu de Litsky
		<i>Milieux présomptifs :</i>
Ensemencement en milieu liquide	24h ou 48h à 37°C	<ul style="list-style-type: none"> • Bouillon glucosé à l'azoture selon Afnor • Bouillon glucosé et azidé (Azide dextrose broth) selon Merck n°1590 • Milieu de Rothe selon Merck n° 15447
		<i>Milieux confirmatifs</i>
	24h ou 48h à 37°C	<ul style="list-style-type: none"> • Milieu de Litsky (liquide) selon Afnor • Bouillon azidé au pourpre de bromocrésol, selon Merck n° 3032 • Milieu (gélisé) bilié à l'esculine (BEA) Pasteur n° 55784

BIBLIOGRAPHIE

DENYIGBA K., Cahier de travaux pratiques : Microbiologie des eaux, tome 1, Génie sanitaire, EIER, 1996-1997, 107 pages.

RODIER J., L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer, chimie, physico-chimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats, Paris (France), Dunod, 1996, 1384 pages.

GUILLERET J.R., Cours de traitement des eaux : procédés généraux de traitement, procédés particuliers de traitement, EIER, Ouagadougou, 102 pages.

DEGREMONT, R. MALMAISON, Mémento technique de l'eau, tome 1, Paris, Degremont ; Lyonnaise des eaux, 1989, 592 pages.

TOGOLA L., Etude comparée des performances épuratoires de deux filières de traitement biologique des eaux usées domestiques par lagunage : Cas de la station expérimentale de l'EIER, Travail de diplôme, EIER, Juin 2004, 88 pages.

SARR A., Mécanismes d'élimination de l'azote et du phosphore dans les eaux usées domestiques traitées par lagunage sous climat sahélien - Possibilités et limites de leur réutilisation comme fertilisants en agriculture urbaine à Ouagadougou, travail de diplôme, EIER, Juin 2005, 105 pages.

Sites Internet :

www.Wikipedia.org

www.senat.fr