



Évaluation du rôle des bio-additifs dans la dégradation des boues de fosse septique et conception de méthodes de mesure de l'activité méthanogène

Mémoire

Jean-Matthieu Laurens

Maîtrise en Génie des Eaux
Maître ès sciences (M. Sc.)

Québec, Canada

© Jean-Matthieu Laurens, 2017

Évaluation du rôle des bio-additifs dans la dégradation des boues de fosse septique et conception de méthodes de mesure de l'activité méthanogène

Mémoire

Jean-Matthieu Laurens

Sous la direction de :

Caetano Dorea, directeur de recherche

Peter Vanrolleghem, codirecteur de recherche

RÉSUMÉ

Des additifs pour le traitement des fosses septiques sont proposés sur le marché, dans le but d'améliorer leur fonctionnement. Cependant, leur influence n'a pas été vérifiée. Un projet de recherche a été mis en place afin d'évaluer l'influence des bio-additifs sur la dégradation des boues de fosse septique. L'étude a été menée, à l'échelle du laboratoire, sur trois produits de traitement testés sur six échantillons différents d'effluents de fosses septiques vidangées. Un témoin (sans additif) a servi de référence pour évaluer la dégradation naturelle simulée des boues de fosse septique et la comparer à celle des bio-additifs. Ils ont été incubés à une température de 35°C, pendant une période de dix jours. Afin d'évaluer leur rôle dans le traitement, les paramètres suivants ont été mesurés : solides totaux, solides volatils, demande chimique en oxygène, coliformes fécaux et production de méthane. Ces paramètres ont été mesurés avant le lancement, à la moitié (5 jours) et à la fin de chaque essai. Les analyses statistiques des résultats obtenus (analyse de la variance et test de Dunnett) n'ont pas permis de mettre en lumière une différence significative entre les bio-additifs utilisés et le témoin, à un seuil de confiance de $\alpha=0,05$. Une partie du projet s'est également concentrée sur la conception de méthodes de mesure du méthane en laboratoire. Les expériences ont été menées en parallèle avec celles menées sur les bio-additifs. Les résultats de l'étude statistique semblent être concluants concernant la fiabilité des mesures faites avec les montages expérimentaux conçus en laboratoire.

ABSTRACT

Additives for septic tank treatment are available in order to improve their performance. However, their influence has not yet been proven. A research project was initiated to assess the influence of bio-additives on septic tank sludge degradation. The study was conducted at laboratory scale with regard to three treatment products tested on six different effluent samples from emptied septic tanks. A blank (without additive) was used as a reference to assess the natural degradation of septic tank sludge and to compare with the effects of the bio-additives. These samples were incubated at 35°C for ten days. In order to evaluate the bio-additive contribution, the following parameters were measured: total solids, volatile solids, chemical oxygen demand, fecal coliforms and methane production, and that before, halfway and at the end of each test. The statistical analysis of the results (analysis of variance and Dunnett's test) was inconclusive to highlight a difference between the bio-additives and the reference at a confidence level of 5%. Another part of this project was to design laboratory methods for methane measurement. These tests were conducted at the same time as the bio-additives experiments. The statistical results seem conclusive as to the reliability of the measurements made with the experimental apparatus designed in the laboratory.

TABLE DES MATIÈRES

Résumé	iii
Abstract	iv
Liste des tableaux	ix
Liste des figures	xi
Abréviations et sigles	xiii
Remerciements	xiv
I. INTRODUCTION.....	1
I.1. Mise en contexte.....	1
I.2. Problématique et présentation du projet.....	2
I.3. Organisation du mémoire	4
II. REVUE DE LITTERATURE	5
II.1. La dégradation des boues de fosse septique	5
II.1.1. Les paramètres liés à la conception d'une fosse septique	5
II.1.2. Caractérisation des boues de fosse septique	6
II.1.3. Les mécanismes intervenant à l'intérieur de la fosse septique.....	7
II.1.4. Les limitations de la décomposition des boues à l'intérieur des fosses septiques.....	8
II.2. Les additifs pour le traitement des fosses septiques	9
II.2.1. Définition	10
II.2.2. Survol des bio-additifs disponibles sur le marché	11
II.2.3. L'influence des bio-additifs utilisés	12
II.2.3.1. Les hypothèses des fabricants à tester	12
II.2.3.2. Comment a été mesurée l'efficacité des bio-additifs ?.....	13
II.3. Les différentes méthodes de mesure du biogaz.....	13
II.3.1. Contexte	13
II.3.2. Les caractéristiques des techniques de mesure.....	14
II.3.3. Des méthodes de mesure retrouvées dans la littérature.....	15
III. OBJECTIFS	17
IV. METHODOLOGIE	18
IV.1. Approche globale	18
IV.2. Évaluation de l'effet des bio-additifs	19
IV.2.1. Les bio-additifs choisis.....	19
IV.2.1.1. Greenpig®	20
IV.2.1.2. Sealand®	21
IV.2.1.3. Septonic®.....	21
IV.2.2. La justification des expériences réalisées.....	22

IV.2.2.1.	Prise en main du système Oxitop® et élaboration d'un protocole	22
IV.2.2.1.1.	Détermination de la durée d'un test Oxitop®	24
IV.2.2.1.2.	Impact de l'utilisation des pastilles de NaOH.....	31
IV.2.2.1.3.	Influence du lavage de l'espace de tête avec un mélange de gaz inertes	33
IV.2.2.1.4.	Vérification de l'aspect anaérobie des boues de fosse septique.....	35
IV.2.2.2.	La réalisation des expériences.....	36
IV.2.2.3.	Protocoles des analyses et matériel utilisé.....	37
IV.2.2.3.1.	La réduction des solides : solides totaux et solides volatils	38
IV.2.2.3.2.	La réduction de la matière organique : demande chimique en oxygène (DCO)	38
IV.2.2.3.3.	La réduction des coliformes fécaux	38
IV.2.3.	Plan expérimental.....	38
IV.3.	Conception de méthodes de mesure du méthane.....	39
IV.3.1.	Montage BMP v.1	40
IV.3.2.	Mise en place des tests de fiabilité	41
IV.3.2.1.	Pertes hydrostatiques.....	42
IV.3.2.2.	Tests d'effervescence	43
IV.3.2.2.1.	Test d'effervescence n°1	43
IV.3.2.2.2.	Test d'effervescence n°2.....	46
IV.3.2.2.3.	Test d'effervescence n°3.....	47
IV.3.3.	Conception des montages BMP v.2	48
IV.3.4.	Tests de fiabilité sur les montages BMP v.2	49
IV.3.5.	Conception des montages Seringue.....	51
IV.3.5.1.	Premier prototype de montage Seringue	51
IV.3.5.2.	Deuxième prototype pour le montage Seringue	52
IV.3.5.3.	Troisième prototype du montage Seringue.....	53
IV.3.5.4.	Quatrième prototype du montage Seringue.....	53
IV.3.5.5.	Le montage Seringue utilisé.....	54
IV.3.6.	Coût des montages conçus	56
IV.3.1.	Le système Oxitop®.....	57
IV.4.	L'analyse statistique des expériences.....	59
IV.4.1.	L'efficacité des bio-additifs.....	59
IV.4.2.	La fiabilité des montages conçus.....	61
V.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	62
V.1.	Analyse des résultats expérimentaux obtenus	62
V.2.	Évaluation de l'effet de trois bio-additifs.....	62
V.2.1.	Essai n°1.....	62

V.2.2.	Analyse d'exploration des données	63
V.2.3.	Les solides totaux	67
V.2.4.	L'analyse de la variance pour les solides totaux	68
V.2.5.	Les solides volatils	68
V.2.6.	L'analyse de la variance pour les solides volatils	69
V.2.7.	La demande chimique en oxygène	70
V.2.8.	L'analyse de la variance pour la DCO	70
V.2.9.	Les coliformes fécaux	71
V.2.10.	L'analyse de la variance pour les coliformes fécaux.....	72
V.3.	Conception de montages expérimentaux pour la mesure de l'activité méthanogène.....	73
V.3.1.	Activité méthanogène avec les montages BMP v.1 et v.2	73
V.3.2.	Résultats des tests de fiabilité du montage BMP v.1.....	74
V.3.2.1.	Test d'effervescence n°1	74
V.3.2.2.	Test d'effervescence n°2	75
V.3.2.3.	Test d'effervescence n°3	76
V.3.2.4.	Tests de fiabilité du montage BMP v.1	76
V.3.3.	Résultats de conception et tests de fiabilité du montage BMP v.2.....	78
V.3.4.	L'activité méthanogène et comparaison des méthodes de mesure	79
V.3.5.	L'analyse de la variance pour l'activité méthanogène	81
V.3.6.	L'analyse de la variance pour la comparaison des montages	81
V.4.	Discussion concernant l'étude.....	82
V.4.1.	Les limitations de l'étude des bio-additifs testés.....	82
V.4.2.	La législation concernant les bio-additifs.....	83
V.4.3.	Les limitations pour la conception des montages.....	84
VI.	CONCLUSION	86
VII.	BIBLIOGRAPHIE	88
VIII.	ANNEXES	91
	Annexe 1 : Explications des méthodes de mesure de biogaz	91
	Annexe 2 : Protocoles d'expériences (ST/SV).....	93
	Annexe 3 : Matériel utilisé pour la DCO et mode opératoire	95
	Annexe 4 : Protocole DCO HACH (Méthode 8000)	97
	Annexe 5 : Protocole de filtration sur membrane (coliformes fécaux)	106
	Annexe 6 : Matériel Oxitop® et la loi de Boyle-Mariotte	108
	Annexe 7 : Protocole de test BMP utilisé	110
	Annexe 8 : Courbes Oxitop et volumes de CH ₄ produits par les trois montages	113
	Annexe 9 : Résultats des expériences	119
	Annexe 10 : Protocole du test Colilert	125

Annexe 11 : Détails des analyses statistiques	127
---	-----

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques des boues de fosse septique (Metcalf & Eddy 1991).....	6
Tableau 2 : Caractéristiques de certains bio-additifs disponibles sur le marché.....	11
Tableau 3 : Avantages et inconvénients de chaque méthode de mesure de biogaz (Angelidaki et al. 2007).	15
Tableau 4 : Caractéristiques des bio-additifs choisis pour l'étude.	20
Tableau 5 : Plan d'expérience pour le rôle des pastilles de NaOH.	31
Tableau 6 : Plan expérimental des expériences.....	39
Tableau 7 : Masses pesées de $C_6H_8O_7$ et de $NaHCO_3$ pour réaliser 1L de solution.....	45
Tableau 8 : Coût du matériel utilisé pour la conception des montages expérimentaux.	56
Tableau 9 : Conversion des unités en SI.	57
Tableau 10 : Coût engendré pour la fabrication des montages.	57
Tableau 11 : Résultats de l'analyse Colilert (essai 6).	66
Tableau 12 : Nombre le plus probable en coliformes totaux pour l'essai 6 (analyse Colilert).	66
Tableau 13 : Nombre le plus probable en E. coli pour l'essai 6 (analyse Colilert).	66
Tableau 14 : Résultats de l'analyse statistique pour les solides totaux.....	68
Tableau 15 : Résultats de l'analyse statistique pour les solides volatils.	69
Tableau 16 : Résultats de l'analyse statistique pour la DCO.	71
Tableau 17 : Résultats de l'analyse statistique pour les coliformes fécaux.	72
Tableau 18 : Résultats de l'activité méthanogène (montage BMP v.1).	73
Tableau 19 : Résultats de l'activité méthanogène (montage BMP v.2).	74
Tableau 20 : Premier test d'effervescence sur les montages BMP v.1.	74
Tableau 21 : Deuxième test d'effervescence sur les montages BMP v.1.....	75
Tableau 22 : Volume de CO_2 dégagé par les pastilles Alka Seltzer™.....	76
Tableau 23 : Tests de fiabilité sur les montages BMP v.1.	77
Tableau 24 : Pertes hydrostatiques pour les montages BMP v.2 testés.....	78
Tableau 25 : Récupération de gaz avec les pastilles Alka Seltzer™ pour les montages BMP v.2 choisis.....	79
Tableau 26 : Méthane produit pour les différents traitements et pour chaque échantillon de boue utilisé.....	80
Tableau 27 : Volume de CH_4 produit par la référence et par les montages expérimentaux (essai n°3).	81
Tableau 28 : Résultats de l'analyse de la variance pour l'activité méthanogène.	81
Tableau 29 : Résultats de l'analyse de la variance pour les montages utilisés.....	82
Tableau 30 : Volume de CH_4 produit par le Témoin et par le BMP v.2 (essai 1).....	113
Tableau 31 : Volume de CH_4 produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 2).114	
Tableau 32 : Volume de CH_4 produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 3).115	
Tableau 33 : Volume de CH_4 produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 4).116	
Tableau 34 : Volume de CH_4 produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 5).117	
Tableau 35 : Volume de CH_4 produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 6).118	
Tableau 36 : Solides totaux (essai 1).....	119
Tableau 37 : Solides volatils (essai 1).	119
Tableau 38 : DCO (essai 1).	119
Tableau 39 : Coliformes fécaux (essai 1).....	119
Tableau 40 : Solides totaux (essai 2).....	120
Tableau 41 : Solides volatils (essai 2).	120
Tableau 42 : DCO (essai 2).	120
Tableau 43 : Coliformes fécaux (essai 2).	120

Tableau 44 : Solides totaux (essai 3).....	121
Tableau 45 : Solides volatils (essai 3).....	121
Tableau 46 : DCO (essai 3).	121
Tableau 47 : Coliformes fécaux (essai 3).....	121
Tableau 48 : Solides totaux (essai 4).....	122
Tableau 49 : Solides volatils (essai 4).....	122
Tableau 50 : DCO (essai 4).....	122
Tableau 51 : Coliformes fécaux (essai 4).....	122
Tableau 52 : Solides totaux (essai 5).....	123
Tableau 53 : Solides volatils (essai 5).....	123
Tableau 54 : DCO (essai 5).	123
Tableau 55 : Coliformes fécaux (essai 5).....	123
Tableau 56 : Solides totaux (essai 6).....	124
Tableau 57 : Solides volatils (essai 6).....	124
Tableau 58 : DCO (essai 6).....	124
Tableau 59 : Coliformes fécaux (essai 6).....	124

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Représentation schématique d'une vidange de fosse septique (Kelly & Serrurier 2016). ...	2
Figure 2 : Taux d'accumulation des boues dans les fosses septiques sur 60 mois (L/pers/j) (Gray 1995).	9
Figure 3 : Bio-additif Greenpig® avec ses caractéristiques.	21
Figure 4 : Bio-additif Sealand® avec ses caractéristiques.	21
Figure 5 : Bio-additif Septonic® avec ses caractéristiques.	22
Figure 6 : Montage Oxitop pour la mesure de l'activité méthanogène.	23
Figure 7 : Composantes du col de la bouteille Oxitop.	23
Figure 8 : Pastilles NaOH NHP600 utilisés pour la mesure de l'activité méthanogène.	23
Figure 9 : Télécommande d'acquisition OC110.	24
Figure 10 : Courbe de pression du CH ₄ pour le triplicata du témoin.	25
Figure 11 : Courbe de pression du CH ₄ pour le triplicata pour Greenpig.	25
Figure 12 : Courbe de pression du CH ₄ pour le triplicata pour Sealand.	25
Figure 13 : Courbe de pression du CH ₄ pour le triplicata du témoin.	26
Figure 14 : Courbe de pression du CH ₄ pour le triplicata pour Greenpig.	27
Figure 15 : Courbe de pression du CH ₄ pour le triplicata pour Sealand.	27
Figure 16 : Démarrage de la mesure de l'activité méthanogène avec le système Oxitop®.	28
Figure 17 : Courbe de pression du système Oxitop (essai n°3).	29
Figure 18 : Enregistreur de température utilisé lors des tests.	30
Figure 19 : Test d'utilisation sans pastille de NaOH (mesure du biogaz).	32
Figure 20 : Test d'utilisation avec pastilles de NaOH (mesure du CH ₄).	32
Figure 21 : Bouteille de gaz inertes (CO ₂ /N ₂).	33
Figure 22 : Mesure de la pression avec (en bas) et sans (en haut) lavage de l'espace de tête (système Oxitop®).	34
Figure 23 : Oxygène dissous dans l'échantillon de boue de fosse septique (essai 3).	36
Figure 24 : Montage du test BMP v.1.	41
Figure 25 : Connexion du montage BMP v.1.	41
Figure 26 : Schéma du montage pour les pertes hydrostatiques.	42
Figure 27 : Schéma du premier test d'effervescence.	43
Figure 28 : Schéma du deuxième test d'effervescence.	46
Figure 29 : Schéma du troisième test d'effervescence.	48
Figure 30 : Embouts en nylon utilisés pour les montages conçus en laboratoire.	48
Figure 31 : Embout fixé sur une bouteille.	49
Figure 32 : Agrafe utilisée en cas de fuite entre la tubulure et l'embout.	50
Figure 33 : Montage BMP v.2.	50
Figure 34 : Glacière contenant de l'eau à 35°C.	51
Figure 35 : Premier prototype pour le montage Seringue.	52
Figure 36 : Deuxième prototype pour le montage Seringue.	52
Figure 37 : Troisième prototype pour le montage Seringue.	53
Figure 38 : Quatrième prototype pour le montage Seringue.	54
Figure 39 : Seringues reliées grâce à un connecteur en Y.	55
Figure 40 : Montage Seringue.	55
Figure 41 : Organigramme des tests post-hoc disponibles.	60
Figure 42 : Évolution de la température lors du premier essai.	63
Figure 43 : Résultats Colilert (cupules jaunes).	64
Figure 44 : Résultats Colilert (cupules bleues à l'UV).	65
Figure 45 : La réduction des solides totaux avec l'écart-type sur les répétitions.	67

Figure 46 : La réduction des solides volatils avec l'écart-type sur les répétitions.	69
Figure 47 : La réduction de la DCO avec l'écart-type sur les répétitions.	70
Figure 48 : La réduction des coliformes fécaux avec l'écart-type sur les répétitions.	71
Figure 49 : Balance de précision.	93
Figure 50 : Four à 550°C.	94
Figure 51 : Four à 105°C.	94
Figure 52 : Coupelles après séchage à 105°C.	94
Figure 53 : Réacteur digital à DCO DRB 200 TM (HACH).	95
Figure 54 : Tubes tests DCO après chauffage à 150°C pendant 2 heures.	95
Figure 55 : Spectrophotomètre UV-visible DR 5000 TM (HACH).	96
Figure 56 : Système de filtration.	106
Figure 57 : Boîte de Pétri avec de la gélose nutritive (MLSB).	106
Figure 58 : Coliformes fécaux sur boîtes de Pétri après incubation à 44°C.	107
Figure 59 : Matériel Oxitop®.	108
Figure 60 : Incubateur à DBO VWR TM	109
Figure 61: Serum Bottle setup including webcams for gas production observation	111
Figure 62: NaOH solution displacement.	111
Figure 63 : Production de méthane pour l'essai 1 (60°C).	113
Figure 64 : Production de méthane pour l'essai 2.	114
Figure 65 : Production de méthane pour l'essai 3.	115
Figure 66 : Production de méthane pour l'essai 4.	116
Figure 67 : Production de méthane pour l'essai 5.	117
Figure 68 : Production de méthane pour l'essai 6.	118
Figure 69 : Test de Dunnett pour la réduction des solides totaux (t0-t10).	127
Figure 70 : Test de Dunnett pour la réduction des solides volatils (t0-t10).	129
Figure 71 : Test de Dunnett pour la réduction de la DCO (t0-t10).	130
Figure 72 : Test de Dunnett pour la réduction de la DCO (t0-t5).	131
Figure 73 : Test de Dunnett pour la réduction des coliformes fécaux (t0-t10).	132
Figure 74 : Test de Dunnett pour la réduction des coliformes fécaux (t0-t5).	133

ABRÉVIATIONS ET SIGLES

AGV	Acides Gras Volatils
ANOVA	Analyse of Variance (Analyse de la variance)
APHA	American Public Health Association (Association de santé publique américaine)
BFS	Boue de fosse septique
BMP	Biochemical Methane Potential (Potentiel de méthane biochimique)
BMP v.2	BMP version 2 (montage expérimental)
Cf.	Confer
CH ₄	Méthane
CO ₂	Dioxyde de Carbone
DBO	Demande Biologique en Oxygène
DCO	Demande Chimique en Oxygène
Eh	Potentiel d'oxydoréduction
GC-FID	Chromatographie en phase Gazeuse couplé à un détecteur à ionisation de flamme
GC-TCD	Chromatographie en phase Gazeuse couplé à un détecteur de conductivité thermique
H ₂	Dihydrogène
H ₂ S	Sulfure d'Hydrogène
HRT	Hydraulic Retention Time (temps de séjour)
<i>i.e.</i>	<i>Id est</i> (c'est-à-dire)
KOH	Hydroxyde de Potassium
L/pers/j	Litre/personne/jour
MES ; MVS	Matières en Suspension ; Matières Volatiles en Suspension
MLSB	Membrane Lauryl Sulfate Broth
N ₂	Diazote
NaOH	Hydroxyde de Sodium
NH ₃	Ammoniac
NR	Non Renseigné
Pa	Pascal
pH	Potentiel Hydrogène
USEPA	United States Environmental Protection Agency (Agence de la protection environnement des États-Unis)
SMA	Specific Methanogenic Activity (Activité Méthanogène Spécifique)
ST ; SV	Solides Totaux ; Solides volatils

REMERCIEMENTS

Directeur de maîtrise :

Caetano C. Dorea

Co-directeur de maîtrise :

Peter A. Vanrolleghem

Techniciens :

Michel Bisping
Christian Juneau
Sey-Hana Saing

Étudiant(e)s :

Catherine Bourgault
Félix Légaré-Julien
Olivier Lemay

Contribution externe :

Denis Dufour

Organisme subventionnaire :

Grand Challenges Canada

I. INTRODUCTION

I.1. Mise en contexte

Dans le but de protéger l'environnement et la santé publique, des mesures concernant le traitement des eaux usées sont nécessaires. Pour assurer l'assainissement des rejets, il existe deux alternatives : l'assainissement collectif et l'assainissement autonome. L'assainissement collectif correspond à l'acheminement des eaux usées domestiques et industrielles, via un réseau de collecte, vers une station d'épuration. Selon les caractéristiques des eaux usées, les traitements appliqués sont différents. Cette option est envisageable lorsqu'un grand nombre d'utilisateurs peut être raccordé à la station d'épuration. Dans la plupart des zones urbanisées des pays industrialisés tels que le Canada, l'assainissement collectif est privilégié. Dans le cas contraire, où un réseau d'égout est inexistant pour diverses raisons, comme dans le cas des résidences isolées ou des milieux ruraux, l'assainissement autonome fournit un système de traitement des eaux usées plus en adéquation avec les moyens à disposition. Ce système de traitement est dit décentralisé car il regroupe les eaux usées d'une petite communauté d'utilisateurs et l'épuration se fait en partie in-situ. Selon le cas de figure, le système d'assainissement autonome rencontré peut être différent, de par sa conception et ses caractéristiques. Les composantes des systèmes d'assainissement autonome sont diverses et variées telles que la fosse septique, le dégraisseur, la fosse Imhoff, les lits et champs d'épandage, le filtre intermittent à sable, etc. Mais le système d'assainissement autonome le plus répandu à travers le monde, pour le traitement des eaux usées domestiques, est celui composé d'une fosse septique, qui effectue un traitement partiel de l'eau usée, et d'un champ d'épuration pour le traitement final et l'élimination de l'effluent de la fosse septique (Metcalf & Eddy 1991 ; Elmitwalli 2013). Une fosse septique peut être aussi appelée fosse toutes eaux dans le cas où elle traite également les eaux ménagères (*i.e.* cuisine, lavage, ...). Son but principal est de décomposer les déchets domestiques en provenance des habitations sans intervention humaine. Ce mode de traitement peut être qualifié de système de traitement passif. Les fosses septiques possèdent un nombre de fonctions importantes telles que :

Enlever les huiles, les graisses et les matières décantables. La fosse septique est conçue pour fournir des conditions de repos sur une période de temps suffisante pour permettre aux solides plus denses de décanter au fond de la cuve et aux matières solides flottantes, les huiles et graisses de remonter à la surface. Il en résulte une couche intermédiaire de l'effluent partiellement clarifié qui sort de la cuve vers le champ d'épuration du sol.

Stocker le matériel décantable et flottant. Les réservoirs sont généreusement dimensionnés en fonction du débit des eaux usées et de la capacité à accumuler les boues dans la partie inférieure de la cuve et l'écume dans la partie supérieure. Toutefois, les réservoirs exigent un pompage, en fonction du taux d'accumulation de boues et d'écume.

Digérer/décomposer la matière organique. Les bactéries anaérobies et anaérobies facultatives peuvent réduire des molécules organiques retenues en composés solubles et en gaz (H_2 , CO_2 , NH_3 , H_2S , et CH_4). Cette digestion permet de réduire considérablement le volume des boues dans les climats chauds (USEPA 2002).

I.2. Problématique et présentation du projet

À l'intérieur de la fosse septique près de la moitié des solides retenus sont décomposés dans le temps, mais cela n'est pas suffisant pour éviter l'accumulation (Pradhan et al. 2011a). La digestion de l'eau usée, des boues, et de l'écume se déroulent naturellement grâce à diverses réactions biologiques via les bactéries anaérobies, anaérobies facultatives et d'autres organismes présents dans l'eau usée. Mais l'apport de matière étant plus important que les solides dégradés sous les conditions d'anaérobiose, l'accumulation de boue et de flottants dans la fosse septique est inévitable. Il est recommandé pour les systèmes qui ne sont pas régulièrement inspectés que la boue dans la fosse septique soit pompée tous les trois à cinq ans selon la taille de la fosse, le nombre d'occupants par bâtiment ou encore l'utilisation d'appareils ménagers. La capacité de la fosse septique pour les locaux d'habitation doit être suffisante pour recueillir la boue et l'écume générée sur quatre ans. Ensuite, l'effluent est acheminé à une station d'épuration, afin d'éviter une réduction de la capacité volumétrique effective du réservoir. Le pompage, qui représente la solution de maintenance la plus efficace, permet ainsi d'assurer le bon fonctionnement de la fosse septique. Lors d'une vidange, la portion liquide, la boue qui a décanté au fond et l'écume qui flotte à la surface sont pompées. Plusieurs facteurs peuvent influencer les caractéristiques de la vidange, tels que les taux d'accumulation de boue et d'écume dans le réservoir. La coupe transversale ci-dessous (Figure 1) schématise une fosse septique en fonctionnement et après vidange.

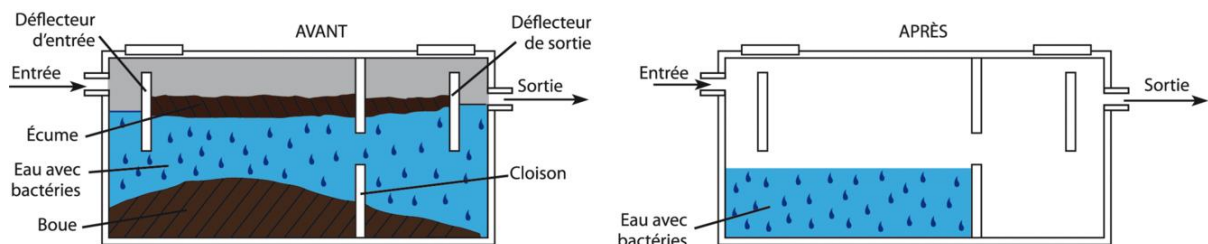


Figure 1 : Représentation schématique d'une vidange de fosse septique (Kelly & Serrurier 2016).

Cette opération relativement coûteuse est primordiale pour assurer la bonne santé de la fosse septique et permettre un bon assainissement des eaux usées domestiques (Brandes 1978 ; USEPA 2002 ; Elmitwalli 2013). Peu de données sont fournies dans la littérature concernant le prix moyen d'une vidange, du fait de la variabilité des coûts selon les caractéristiques de chaque région du monde, les techniques et la logistique utilisées, etc. Mais d'après Gray (1995), la vidange d'une fosse septique pour une maison individuelle en Irlande, à cette époque, coûtait entre 45 et 80£ (90 à 160\$CAD), généralement sans prendre en considération le volume de boue. Avec les variations du coût de la vie, cette gamme de prix est sujette à changement, ce qui représente un obstacle à une vidange régulière des fosses. De plus, d'autres aspects, concernant la logistique, sont susceptibles de dissuader les propriétaires de réaliser la vidange, tels que les problèmes d'accès au site du véhicule de pompage, etc. Il n'est pas inutile de rappeler que ce type d'assainissement présente des problèmes spécifiques, tels qu'un coût élevé par habitant, des finances limitées pour les parties prenantes, des budgets réduits accordés pour la maintenance et les coûts d'opération ou encore des exigences de rejet strictes (Metcalf & Eddy 1991). En effet, pour protéger au mieux l'environnement et la santé publique, les exigences en terme de normes de rejet pour l'eau usée traitée sont les mêmes pour les grandes agglomérations que pour les petites communautés rurales. Ce critère implique donc que le degré de traitement doit être tout aussi élevé, avec des moyens humains, financiers et opérationnels moindres. Toutes ces particularités laissent à penser que la charge financière générée pour assurer le bon assainissement est importante ou du moins plus conséquente.

Afin de réduire la fréquence des vidanges et ainsi économiser de l'argent, certains fabricants proposent donc des produits de traitement capables d'améliorer les capacités d'épuration des fosses septiques. Selon Pradhan et al. (2011), plus de 1200 additifs différents sont proposés sur le marché. Parmi ces produits commerciaux, certains sont composés principalement de bactéries et d'enzymes qui sont supposées améliorer la dégradation des déchets et ainsi diminuer par le fait même la fréquence de coûteuses vidanges. De par leur composition, ils sont couramment nommés « bio-additifs ». Au vu du large choix de produits disponibles sur le marché canadien, le rôle réel de ces bio-additifs dans l'amélioration de la dégradation des déchets à l'intérieur de la fosse septique reste donc à prouver. Un certain nombre d'études ont été menées afin d'évaluer leur efficacité, mais les résultats obtenus ne démontrent pas d'effet significatif des bio-additifs dans l'amélioration du fonctionnement des fosses septiques (Pradhan et al. 2008). Certains aspects positifs de ces produits de traitement ont été démontrés seulement lors d'expériences menées en laboratoire dans des conditions favorables à l'utilisation des bio-additifs, mais en aucun cas représentatives de situations réalistes (Jantrania, Sack, and Earp 1994 ; Scow 1994). Au travers de cette étude, nous

allons essayer de démontrer le rôle de ces bio-additifs dans l'amélioration du traitement des déchets organiques contenus dans les fosses septiques.

I.3. Organisation du mémoire

Ce document comprend une revue bibliographique présentant les mécanismes de dégradation des boues de fosse septique, un aperçu des différents produits de traitement utilisés à ce jour, ainsi qu'un survol de leurs performances. Les différentes méthodes de mesure de biogaz sont également détaillées dans cette partie. Les objectifs de l'étude ont été définis grâce à l'état actuel des connaissances et les lacunes existantes présentées dans la revue de littérature. Ensuite, la réalisation des essais en laboratoire, le protocole des analyses effectuées sur les échantillons ainsi que le plan expérimental sont exposés en détails dans la partie méthodologie. Cette partie comprend également l'explication des méthodes d'analyse élaborées en laboratoire pour la mesure de méthane. Par la suite, les résultats expérimentaux sont présentés et interprétés, grâce à une étude statistique complète, pour fournir entre autres les données relatives à la performance des produits de traitement. Cette section comprend également une discussion sur les performances des différents bio-additifs utilisés ainsi que les limitations des montages conçus. La dernière partie présente les conclusions issues de ce projet.

II. REVUE DE LITTERATURE

Ce chapitre résume les connaissances scientifiques et techniques qui ont été nécessaires à la compréhension des essais réalisés et présentés dans ce rapport. Dans un premier temps, les caractéristiques et les mécanismes de la dégradation des boues de fosse septique sont présentés. Ensuite, les caractéristiques des bio-additifs utilisés sont exposées avec les informations connues. Enfin, les techniques de mesure du méthane produit sont abordées.

II.1. La dégradation des boues de fosse septique

II.1.1. Les paramètres liés à la conception d'une fosse septique

Le volume de fosse septique, le temps de rétention hydraulique (HRT ou temps de séjour hydraulique) et la quantité de boue accumulée sont considérés comme étant les principaux paramètres affectant la conception de la fosse septique, sa performance ainsi que la fréquence de vidange (Elmitwalli 2013). Pour la construction de la fosse septique, le HRT minimum est de trois jours et le volume maximum de boue accumulée est de deux tiers du volume de la fosse (Viraraghavan 1988 ; USEPA 2002). La production de boues des fosses varie entre 0,19 et 0,22L/pers/j pour l'eau usée domestique et entre 0,13 et 0,15L/pers/j pour l'eau noire, qui correspond aux eaux usées provenant des toilettes. L'eau noire contient donc essentiellement des matières fécales, souvent des pathogènes et parfois des produits toxiques (par ex. détergents). Ces deux types d'effluents ont une conversion maximale en méthane dans la fosse d'environ de 50% pour l'eau usée domestique, et 60% pour l'eau noire (Elmitwalli 2013). L'eau noire a un taux de conversion plus important car elle contient une teneur plus élevée en particules, qui s'accumulent dans le réservoir et qui subissent ensuite une digestion anaérobie. La conversion en méthane est principalement régit par la température lors de la première année d'opération de la fosse septique. La température opérationnelle influe essentiellement sur les caractéristiques de la boue accumulée et la conversion en méthane. La nature de la composition de l'affluent joue également un rôle, c'est-à-dire plus l'affluent est chargé et plus la production de méthane est importante. Théoriquement pour accroître la conversion en méthane dans la fosse septique, une eau usée domestique concentrée est donc nécessaire (Elmitwalli 2013). Cependant, en réalité, du fait de la complexité des mécanismes à l'intérieur de la fosse septique (par ex. cinétique de la digestion anaérobie, prédation et/ou compétition entre les différentes populations bactériennes, disponibilité réelle des nutriments nécessaires pour la biomasse méthanogène, sensibilité aux produits ménagers, les variations de pH, ...) le taux de conversion de l'eau usée domestique en méthane n'est pas directement soumis à la

composition de l’affluent, mais à une multitude de facteurs. Une fosse septique bien entretenue et correctement dimensionnée est capable d’enlever 15 à 40% de la matière organique biodégradable et retenir entre 50 et 80% des solides (Elmitwalli 2013). La concentration de la demande chimique en oxygène (DCO) totale entrante et le temps de séjour hydraulique de la fosse septique contrôlent principalement le temps de remplissage. Grâce à ces deux paramètres, la nature de l’affluent domestique peut être prédite. Une estimation théorique peut être faite pour la détermination de l’intervalle requis pour la vidange des boues ainsi que les caractéristiques de la boue purgée et la conversion en méthane (Elmitwalli 2013).

II.1.2. Caractérisation des boues de fosse septique

La concentration en polluants est plus importante dans les boues de fosse septique que dans l’eau usée domestique conventionnelle. Par exemple, dans le cas de l’eau usée domestique, la DCO varie selon la consommation d’eau et peut être représentée par la charge en DCO totale. Cette dernière possède une valeur relativement constante. La concentration en DCO totale est la charge de DCO totale divisée par la quantité d’eau usée produite par personne et par jour. Dans le cas d’une fosse septique en ce qui concerne la détermination de la boue produite (L/pers/j), la production journalière de DCO est supposée être de 160mgDCO/pers/j (Metcalf & Eddy 2003) et l’eau noire en représente 60% (Elmitwalli 2013). À titre indicatif, le contenu des solides dans la boue extrait varie de 3 à 10% (USEPA 2002) avec une DCO totale de 17 000 à 50 000mg/L (Brandes 1978). Le Tableau 1, montre les ordres de grandeur en contaminants pour les boues de fosse septique.

Tableau 1 : Caractéristiques des boues de fosse septique (Metcalf & Eddy 1991).

Contaminants	Concentration, mg/L	
	Gamme	Valeur typique
DCO	5000-80000	30000
Solides Totaux	5000-100000	40000
MES	4000-100000	15000
MVS	1200-14000	7000

Au vu des caractéristiques présentées, la concentration en contaminants et la charge de pollution à traiter dans les boues de fosse septique est importante. La digestion anaérobie des boues de fosse septique est une voie intéressante, car elle est utilisée principalement pour la stabilisation des boues concentrées. Ce procédé permet l’élimination d’une grande quantité de matière organique. De plus,

il génère des quantités de biomasse relativement faibles par rapport à la digestion aérobie (Metcalf & Eddy 1991).

De par ces caractéristiques, le contenu des fosses septiques est très hétérogène, de composition variable, avec des activités biologiques et une biodégradabilité différentes. Les facteurs influençant les caractéristiques de la boue (incluant l'écume) sont : le climat ; les habitudes d'usage de l'eau ; la taille, la conception et la fréquence de pompage de la fosse septique ; les caractéristiques de l'approvisionnement en eau ; le matériau des conduites et l'utilisation d'appareils de conservation d'eau, de broyeurs de déchets, de produits chimiques ménagers et d'adoucisseurs d'eau (USEPA 2002). Ces facteurs influencent le taux d'accumulation de boue à l'intérieur de la fosse septique. Il représente la quantité ou le volume de boue qui s'accumule par unité de temps. D'après la revue de littérature disponible, certaines études se sont intéressées seulement au taux d'accumulation par année, alors que d'autres ont aussi analysé des échantillons de boue pour un nombre de paramètres incluant le pH, le potentiel d'oxydoréduction (Eh), les solides totaux, les solides volatils, la DCO, le taux de production de méthane, et les acides gras volatils (Lossing et al. 2010).

II.1.3. Les mécanismes intervenant à l'intérieur de la fosse septique

Les fosses septiques peuvent être considérées comme de simples digesteurs anaérobies qui réalisent la décantation des déchets et la dégradation partielle de la matière organique dans les conditions ambiantes (Diak et al. 2012 ; Lossing et al. 2010). Cette digestion anaérobie permet de stabiliser la boue grâce à la décomposition de la matière organique en l'absence d'oxygène moléculaire. Elle se fait selon plusieurs étapes. Chaque séquence de ces processus est effectuée par des microorganismes spécifiques. Tout d'abord, les molécules organiques complexes sont hydrolysées, grâce à l'action d'enzymes extracellulaires, pour donner des monomères, c'est-à-dire des sous produits assimilables pour l'utilisation énergétique (source de carbone telle que les sucres, les acides aminés, les monoglycérides, les acides gras à longue chaîne, etc.). L'action des enzymes est importante dans le fonctionnement de la fosse septique. Une décroissance dans l'activité enzymatique peut provoquer une dégradation incomplète et donc entraîner une accumulation de déchets plus importante dans le temps (Diak et al. 2012). Ensuite, des bactéries réalisant la fermentation, convertissent ces produits en acides gras intermédiaires à courte chaîne (deux à six carbones) : c'est l'acidogénèse. Les principaux acides produits sont l'acide acétique, l'acide propionique et l'acide butyrique. Puis les populations bactériennes acétogènes ont pour rôle de transformer les acides organiques en substrats (acétate et hydrogène) pour l'étape de méthanogénèse. La dernière phase biologique de la conversion anaérobie est réalisée par des bactéries ainsi que des archaea méthanogènes

(microorganismes unicellulaires procaryotes) qui convertissent les composés, ainsi créés, en produits finaux qui sont principalement du méthane et du dioxyde de carbone. La production de méthane émane d'un long processus qui fait intervenir plusieurs catégories de bactéries, à des conditions spécifiques. En effet, plusieurs paramètres d'importance sont à surveiller afin d'assurer au mieux les conditions favorables à la biomasse bactérienne pour assurer la pérennité de la dégradation anaérobie. Le pH et la température du milieu sont d'autant plus importants pour la dernière étape de la digestion anaérobie car les bactéries méthanogènes sont sensibles aux variations de pH, de température et de charge organique. Ces variations peuvent entraîner un stress de ces bactéries et causer des problèmes à l'intérieur des fosses septiques (Diak et al. 2012). La plage optimale pour le pH de fonctionnement est de 6,6 à 7,6. Quant à lui, le paramètre température détermine la cinétique de dégradation des déchets et donc de l'activité méthanogène. Les trois plages spécifiques optimales sont de 15 à 25°C pour la biomasse psychrophile, de 30 à 38°C pour la biomasse mésophile, et de 49 à 57°C pour la biomasse thermophile. Pour les conditions mésophiles, les principaux gaz produits sont le méthane (CH_4 : 65 à 70%), le dioxyde de carbone (CO_2 : 25 à 30%) et de petites quantités de diazote (N_2), de dihydrogène (H_2), de sulfure d'hydrogène (H_2S), de vapeur d'eau, etc. (Metcalf & Eddy 1991 ; Souto et al. 2009). Dans le contexte canadien, une température plus faible entraîne une cinétique de dégradation plus lente.

II.1.4. Les limitations de la décomposition des boues à l'intérieur des fosses septiques

L'efficacité d'une fosse septique peut être évaluée par le taux d'accumulation de boue stabilisée. Un réservoir est considéré efficace pour un taux d'accumulation de boue en-dessous de 0,175L/pers/j, un réservoir moyen de 0,175 à 0,225L/pers/j et un réservoir déficient au-dessus de 0,225L/pers/j (Lossing et al. 2010). Plusieurs études ont été menées pendant un certain nombre d'années, pour déterminer la décroissance des taux d'accumulation de boue stabilisée et de solides accumulés. La moyenne estimée du taux d'accumulation des solides est de 0,225L/pers/j pour les trois premières années, et de 0,165L/pers/j après trois ans et demi (Lossing et al. 2010). Le taux d'accumulation de la boue dans les fosses septiques décroît de manière stable dans le temps, avec un taux d'accumulation de 0,254L/pers/j après six mois, 0,178L/pers/j après cinq ans et une moyenne de 0,234L/pers/j sans prendre l'âge de la boue en considération (Gray 1995) (cf. Figure 2).

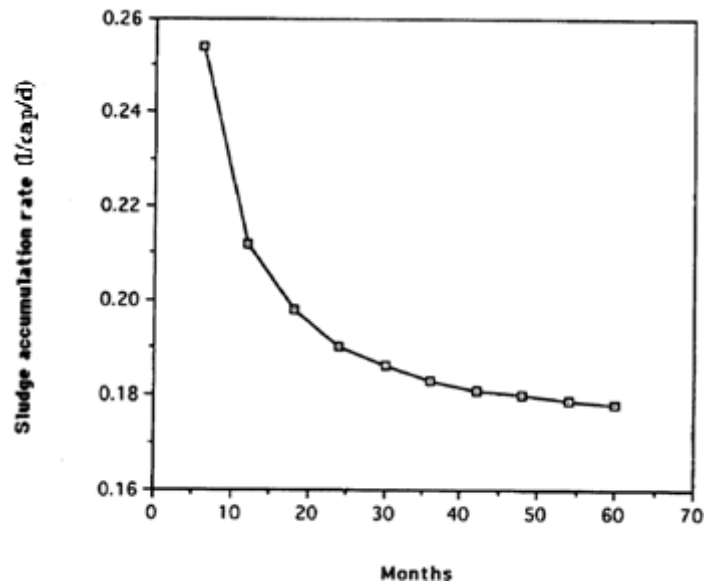


Figure 2 : Taux d'accumulation des boues dans les fosses septiques sur 60 mois (L/pers/j) (Gray 1995).

Lossing et al. (2010) a reporté une accumulation de solides (boue + écume) moyenne de 0,32L/pers/j. Les variations en taux d'accumulation de boue peuvent être liées aux différences des caractéristiques de l'affluent, les conditions environnementales et/ou l'utilisation de l'eau. La vitesse de dégradation des boues sous des conditions anaérobies étant plus lente que les taux d'accumulation des déchets dans la fosse septique, il y a irrémédiablement une augmentation des volumes de boue et d'écume dans la fosse. Pour assurer un bon fonctionnement, il est nécessaire de vidanger de manière régulière. L'intervalle entre les vidanges est dépendant d'un nombre de facteurs qui affectent principalement le taux de dégradation (température, disponibilité en nutriments, écologie bactérienne), la décantation et la compaction des solides (HRT du liquide, dynamique de l'écoulement dans le réservoir), et les caractéristiques de l'eau usée (volume, concentration en solides, dégradabilité des solides) (Gray 1995).

II.2. Les additifs pour le traitement des fosses septiques

Pour palier au problème de vidanges trop fréquentes des fosses septiques, certains fabricants proposent des produits de traitement capables d'améliorer la dégradation des déchets organiques contenus et accumulés dans les réservoirs. En Amérique du nord (États-Unis et Canada), 25% du total des unités d'habitations et 33% des nouvelles constructions sont reliées à un système d'assainissement autonome (*i.e.* fosse septique) pour le traitement des eaux usées domestiques (Pradhan et al. 2008). Certains états comme la Caroline du Nord utilisent cette technologie de manière plus courante (50% des habitations). Au Canada, la fosse septique est le système d'assainissement le plus répandu (Diak et al. 2012). Le nombre d'utilisateurs de système de traitement autonome augmente chaque année du fait de l'expansion urbaine et pavillonnaire et du

coût élevé des systèmes centralisés d'égout. De ce fait, la popularité croissante des systèmes autonomes de traitement des eaux usées a amené l'expansion et l'utilisation d'additifs pour fosse septique (Pradhan et al. 2008). Des spécialistes en santé environnementale, des professionnels des systèmes autonomes de traitement des eaux usées, des scientifiques et des propriétaires se sont questionnés sur l'efficacité des additifs pour fosse septique. Près de 1200 produits sont disponibles sur le marché (National Small Flows Clearinghouse 2002 ; Pradhan et al. 2011b). Beaucoup de fabricants et distributeurs revendiquent le fait que les additifs pour fosses septiques améliorent les populations bactériennes, qu'ils permettent d'éliminer ou de réduire la fréquence des pompages nécessaires à l'enlèvement des solides accumulés dans les fosses septiques (Pradhan et al. 2008). Mais de par leur grand nombre, l'efficacité des produits commerciaux vendus pour l'amélioration du fonctionnement des fosses septiques reste à prouver.

II.2.1. Définition

Il existe deux catégories distinctes d'additifs utilisés pour les systèmes septiques : (1) chimique, incluant les composés inorganiques et les solvants organiques et (2) biologique, incluant les levures, les bactéries et les enzymes.

Les *additifs chimiques* sont habituellement soit des agents oxydants puissants, soit des produits organiques chimiques, mais cette catégorie peut aussi inclure les produits chimiques inorganiques. Les oxydants puissants et les produits chimiques organiques peuvent être préjudiciables pour les systèmes septiques et l'environnement, d'où une utilisation limitée voire interdite aujourd'hui. Certains additifs chimiques utilisés dans les systèmes septiques étaient composés de peroxyde d'hydrogène, d'acide sulfurique, de formaldéhyde, de bicarbonate de soude et d'alun. Le bicarbonate de soude et d'autres flocculants sont commercialisés comme des produits qui réduisent la concentration de matières en suspension dans les effluents de fosse septique. Cependant, la recherche n'a pas démontré de façon concluante un succès significatif à cet égard (USEPA 2002). Les produits chimiques utilisés dans les additifs comprennent des naphthalènes, des alcanes, ou des benzènes. L'ajout de ces produits détruit la population bactérienne dans la fosse septique, changeant les caractéristiques de perméabilité du système d'absorption du sol, et entraîne la contamination de l'eau souterraine (National Small Flows Clearinghouse 2002).

Les *additifs biologiques* ou bio-additifs sont conçus pour améliorer l'activité biologique à l'intérieur des fosses septiques. Ils sont essentiellement composés de bactéries et d'enzymes extracellulaires mélangées avec des surfactants ou des solutions nutritives (USEPA 2002). Les additifs sous forme d'enzymes sont censés améliorer la performance de la fosse septique en augmentant les taux

d'hydrolyse et de digestion tout en maintenant une population microbienne en bonne santé. Cependant, il n'a pas été clairement démontré que les produits enzymatiques soient efficaces dans des conditions de fosse septique où il n'y a ni mélange, ni chauffage. De plus, les quantités d'enzymes ajoutées sont faibles et elles peuvent être lessivées facilement (Diak et al. 2012). Certains des bio-additifs vendus sont également composés de levures, mais aucun rôle majeur sur l'amélioration de la fosse septique n'a été démontré. Beaucoup d'experts en environnement ne sont pas inquiets concernant les nuisances environnementales qui pourraient être causées par ces additifs biologiques (Pradhan et al. 2008 ; Dow et al. 2005 ; Kaplan 1983). Cependant, ces produits ne semblent pas améliorer considérablement les processus de décomposition biologique qui s'opèrent dans la fosse septique. Certains de ces bio-additifs semblent dégrader ou dissiper l'écume ou la boue de la fosse septique. Toutefois, cet avantage relativement mineur n'a pas été démontré de façon concluante (USEPA 2002). L'intérêt ici est porté sur les produits de traitement d'origine biologique, c'est-à-dire les bio-additifs conçus pour améliorer l'efficacité de l'activité biologique de la fosse septique grâce à l'ajout d'organismes tels que des bactéries, des enzymes et/ou des levures.

II.2.2. Survol des bio-additifs disponibles sur le marché

Sur la base de tests menés à l'échelle du laboratoire et au laboratoire des fabricants, les formules pour les additifs sont sélectionnées pour avoir des hauts niveaux de production d'enzymes et des taux de croissance des organismes bactériens importants (Pradhan et al. 2008). De plus, ces formules doivent avoir une capacité à survivre dans des conditions environnementales semblables à celles des systèmes d'évacuation d'eaux usées, et tolérante à une large gamme de pH, de température ainsi qu'à la présence de détergents et autres produits chimiques domestiques (Pradhan et al. 2008). Les conditions physico-chimiques dans les fosses septiques sont soumises à l'influence de facteurs extérieurs (variation de la température du milieu, apport en substances présentes dans l'eau usée, etc.). Les bio-additifs doivent donc être capables d'opérer dans ces conditions. Les principales bactéries dans les additifs font partie des bactéries aérobies ou anaérobies facultatives telles que les *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Ruminococcus*, *Lactobacillus* et d'autres (Pradhan et al. 2008 ; Scow, 1994). Beaucoup de ces organismes peuvent favoriser l'hydrolyse via la liquéfaction (par ex. *Bacillus*, *Pseudomonas*), la conversion de molécules plus complexes en acides gras via la fermentation acide (par ex. *Lactobacillus*, *Ruminococcus*), et la conversion en gaz via la méthanogénèse et d'autres réactions. Les additifs incluent également des enzymes telles que les protéases, les amylases, les lipases et la cellulase capables de dégrader les composés organiques

(protéines, sucres, graisses, etc.) contenus dans les déchets de l'eau usée domestique (Pradhan et al. 2008 ; Scow, 1994).

Le Tableau 2 présente de manière non exhaustive quelques produits présents sur le marché, avec les caractéristiques données par les fabricants. Cependant, l'information concernant le type de souches bactériennes ou enzymatiques utilisées pour ces bio-additifs n'est pas disponible. Il laisse entrevoir le grand nombre de choix possibles pour l'amélioration du fonctionnement d'une fosse septique.

Tableau 2 : Caractéristiques de certains bio-additifs disponibles sur le marché.

Nom	Principe actif (bactéries/enzymes) et ingrédients	Format (liquide/solide)	Une dose/volume de fosse septique	Effets désirés selon les fabricants
CLR septic treatment®	Bactéries, enzymes	Liquide	276mL/7570L	Biodégradation des graisses et matières organiques, réduit l'accumulation des boues
Drano® ¹	Enzymes naturelles	Solide	127,5g/5678L	Dissolution des déchets solides, de la graisse et des protéines
Greenpig®	Mélange de microorganismes, neutralisants, tensioactifs, tampons et enzymes	Solide	28,35g/1893L ; 3785L ; 5678L	Accélère la décomposition des matières accumulées et compense les effets néfastes des produits chimiques domestiques
Mr Green Enviroflush®	Nutriments, vitamines, acides aminés, composés organiques, minéraux et eau	NR (non renseigné)	NR	Décomposition des graisses et des boues
Rid-X® ¹	Certaines bactéries, enzymes, glycérine	Solide/liquide	NR	NR
Sealand®	Bactéries et enzymes	Solide	25g/3785L	Aide à l'élimination des odeurs et empêche le colmatage, décompose et liquéfie les déchets organiques
Septonic®	Enzymes, levure, solides organiques, conditionneur d'eau	Solide	17,7g/1893L	Décomposition des graisses et des solides (liquéfaction des déchets organiques, stimulation de l'effet des bactéries bénéfiques)
Zep®	Enzymes, mélange microbien	Liquide	1L/3785L	Aide à la dissolution des dépôts

¹bio-additifs analysés par Pradhan et al. (2011a). L'effet des traitements n'a pas été concluant pour tous les paramètres testés.

Il est difficile d'évaluer la proportion des propriétaires de fosses septiques qui utilisent de manière régulière les bio-additifs vendus dans le commerce. Mais au vu du large panel de choix possibles concernant la seule catégorie des produits de traitement biologique, cela laisse penser que la demande est loin d'être négligeable. Cela peut s'expliquer notamment par le faible coût et la facilité d'utilisation que représentent ces produits. La comparaison avec un pompage conventionnel ne laisse planer aucun doute en ce qui concerne les frais engendrés. L'utilisateur préférera effectivement se procurer un produit de quelques dizaines de dollars afin de réduire la fréquence des vidanges pouvant coûter quelques centaines de dollars (Excavation René Morency 2014). De manière spontanée, cet argument est avancé par les fabricants et aux yeux du potentiel client, il semble irréfutable. Cependant, le véritable rôle de ces produits de traitement, en termes d'efficacité, reste encore à déterminer.

II.2.3. L'influence des bio-additifs utilisés

De par le nombre important de publicités dans les magazines locaux, les publications nationales, les sollicitations téléphoniques, les publicités internet et télévisuelles ainsi que leur facile acquisition dans les quincailleries et les magasins de matériaux de construction, les additifs soulèvent des questions parmi les propriétaires de fosse septique. Certains produits enzymatiques peuvent avoir la capacité de réduire la quantité d'huiles et de graisses dans la fosse septique (National Small Flows Clearinghouse 2002). Cependant, très peu d'études révisées par des pairs et publiées existent concernant l'efficacité microbienne des additifs biologiques (Pradhan et al. 2008 ; Pradhan et al. 2011a ; Pradhan et al. 2011b ; USEPA 2002). L'efficacité des additifs repose principalement sur des études menées en laboratoire, souvent réalisées par les fabricants eux-mêmes (Diak et al. 2012 ; Jantrania et al. 1994 ; Foxon et al. 2009). De plus, la nature et la composition des souches de bactéries et d'enzymes utilisées restent inconnues car elles ne sont pas communiquées au client pour des raisons de confidentialité (Pradhan et al. 2008).

II.2.3.1. Les hypothèses des fabricants à tester

Selon les fabricants, la plupart des bio-additifs sont supposés dégrader ou améliorer la dégradation des déchets organiques dépendamment de leur type. D'après les informations regroupées dans le Tableau 2, les différents bio-additifs sont capables de réaliser plusieurs actions sur l'écume, la boue, sur les produits chimiques domestiques accumulés et nocifs pour la biomasse bactérienne, et réduire les impacts d'une fosse septique en dysfonctionnement (*i.e.* élimination des odeurs, du colmatage). Les additifs, sous forme d'enzyme, sont censés améliorer la performance de la fosse septique en

augmentant les taux d'hydrolyse et de digestion tout en maintenant une population microbienne en bonne santé. Mais il n'est pas clairement spécifié que les enzymes seraient efficaces dans des conditions où il n'y a pas de mélange, ni de chauffage. De plus, les quantités d'enzymes ajoutées sont faibles et elles peuvent être lavées rapidement (Diak et al. 2012). En général, les hypothèses à tester concernant l'efficacité des bio-additifs se concentrent sur la dégradation des solides et de la matière organique, qui représentent les éléments mis en cause lors d'un dysfonctionnement de la fosse septique.

II.2.3.2. Comment a été mesurée l'efficacité des bio-additifs ?

Les auteurs des études menées pour tester l'efficacité des bio-additifs ont cherché à mesurer une série de paramètres se référant principalement à l'évaluation de la dégradation des solides et de la matière organique (Pradhan et al. 2011a ; Pradhan et al. 2011b ; Foxon et al. 2009 ; Diak et al. 2012 ; USEPA 2002), l'évolution des populations bactériennes (Pradhan et al. 2008 ; National Small Flows Clearinghouse 2002 ; Scow, 1994), ainsi qu'à la production de biogaz (Elmitwalli 2013). Lors de ces études, les principaux paramètres mesurés sont en général les solides totaux et les solides volatils (ST, SV), la demande chimique en oxygène (DCO totale et soluble), et parfois la teneur en acides gras volatils (AGV). La production de biogaz, notamment le méthane (CH_4), permet de traduire le phénomène de dégradation en condition anaérobie. Ces paramètres permettent de déterminer les différences dans les taux de digestion en présence et en absence de bio-additifs.

II.3. Les différentes méthodes de mesure du biogaz

II.3.1. Contexte

L'appellation de biogaz fait référence à tous les gaz produits par la dégradation biologique de matières organiques en absence d'oxygène, c'est-à-dire en condition anaérobie. Ce biogaz est principalement composé de méthane et de dioxyde de carbone et il possède dans ce cas un potentiel énergétique élevé. La mesure du biogaz produit par les déchets organiques a fait l'objet d'une attention toute particulière dans le contexte de la valorisation énergétique et de la diminution des gaz à effet de serre, mais elle peut aussi être utilisée dans le but d'évaluer la dégradation dans les échantillons de boues de fosse septique. Dans le but d'évaluer l'activité méthanogène, plusieurs méthodes ont été élaborées pour mesurer la quantité de biogaz produit par la dégradation anaérobie. Il existe deux principes possibles : le test de potentiel méthanogène (test BMP) ou le test d'activité méthanogène spécifique (test SMA). Le potentiel méthanogène représente la quantité de méthane qui peut être produite à partir d'un échantillon de boue. Le test BMP est utilisé pour caractériser les

déchets en termes de potentiel de méthane produit sous des conditions anaérobies pour les substances organiques (Strömberg et al. 2014). Il est reconnu comme un outil de sélection et de valorisation du matériel de la biomasse pour la production de biogaz et peut donc être appliqué pour déterminer la biodégradabilité d'un déchet en condition anaérobie (Owen et al. 1979). Le test BMP est une procédure permettant de mesurer la digestion anaérobie de différents substrats (Sunwanee et al. 2014). D'autre part, le test SMA sur la biomasse anaérobie est un outil de caractérisation de l'activité biochimique des organismes présents (Sinbuathong et al. 2007). Le test SMA est réalisé en plaçant une quantité connue de biomasse dans une bouteille à laquelle est ajouté une quantité connue de substrat, dans des concentrations suffisantes pour engendrer une activité maximale en termes de production de méthane qui est par la suite mesuré (Sunwanee et al. 2014). En somme, l'activité méthanogène spécifique détermine la capacité maximale d'une boue à produire du méthane pour un substrat donné (Hussain & Dubey 2015).

II.3.2. Les caractéristiques des techniques de mesure

Il existe différentes méthodes de mesure du biogaz selon le matériel utilisé. Elles peuvent être réparties selon deux catégories distinctes :

- Les méthodes volumétriques qui mesurent le volume du biogaz produit à une pression constante, par déplacement de volume,
- Les méthodes manométriques qui mesurent la pression du biogaz produit à un volume constant.

Les caractéristiques de ces deux techniques de mesure sont répertoriées dans le Tableau 3.

Lorsque le biogaz n'est pas analysé, il doit être « lavé » pour ne garder que le méthane. En général, les échantillons sont passés dans des solutions alcalines (NaOH, KOH). Certains équipements n'utilisent pas de solution mais des pastilles, le principe restant le même.

Tableau 3 : Avantages et inconvénients de chaque méthode de mesure de biogaz (Angelidaki et al. 2007).

Méthodes	Commentaires
Volumétrique	Imprécision due aux variations de la pression atmosphérique. Évaporation de l'eau dans les systèmes de déplacement. Simple et peu cher.
Manométrique	Les capteurs manométriques ont une gamme de précision réduite. Les capteurs de pression portatifs plus pratiques que les valves d'échantillonnage à cause de la probabilité de fuites. Systèmes avec une sensibilité améliorée et facile d'utilisation.

II.3.3. Des méthodes de mesure retrouvées dans la littérature

Les méthodes de mesure qui sont présentées dans cette section ont été choisies de par leur simplicité de conception et d'utilisation. L'intérêt ici est porté sur les méthodes, à la fois volumétriques et manométriques, qui ont été développées en laboratoire avec du matériel facilement disponible, pour évaluer la dégradation des échantillons en conditions anaérobies. L'accès à du matériel facilement disponible est un aspect important pris en considération lors de la conception. Les méthodes analytiques de mesure peuvent être reproduites sur le terrain si elles ne sont pas transportables, ou facilement réparables si une composante du montage vient à être défectueuse. Owen et al. (1979) ont proposé une technique comportant une bouteille incubée avec laquelle le biogaz est mesuré grâce à une seringue lubrifiée. Le biogaz produit est mesuré grâce au piston de la seringue qui se déplace et s'équilibre entre la pression dans la bouteille et la pression atmosphérique, à la température d'incubation. Même si cette méthode est bon marché et nécessite du matériel simple de laboratoire, la mise à zéro de la seringue est encombrante et la reproductibilité de la méthode dépend de la difficulté à garder constant la friction entre le piston et le cylindre de la seringue.

Souto et al. (2009) ont testé deux méthodes de mesure (volumétrique avec lavage de gaz dans une solution alcaline, et manométrique utilisant le système Oxitop®). Les résultats des méthodes de mesure de méthane testées ont présenté une performance similaire. La première technique consiste à faire un lavage du biogaz dans une solution alcaline de soude (NaOH) pour capter le dioxyde de carbone et ainsi ne conserver que le méthane, mesuré par une seringue en verre. La deuxième méthode est une méthode manométrique utilisant le système Oxitop®. Au vu de l'étude menée, les

deux méthodes ont montré des similitudes au niveau du volume de méthane mesuré. La méthode manométrique utilisant le système Oxitop® demande des investissements plus importants concernant l'achat d'équipement, l'opération et la maintenance. Cependant, une telle technique permet de mesurer l'activité méthanogène des boues où la composition du biogaz est changeante et où un certain degré d'automatisme est requis. Plus de détails concernant les méthodes sont fournis en annexe 1.

III. OBJECTIFS

Au vu des connaissances et des lacunes existantes dans la littérature, l'objectif principal de l'étude est

L'évaluation de l'influence des bio-additifs sur la dégradation des boues de fosse septique.

Les sous objectifs de l'étude sont :

- La comparaison de l'effet de plusieurs produits disponibles sur le marché canadien (réduction des solides et/ou des volumes, réduction de la matière organique, abattement en microorganismes d'origine fécale, production de gaz) sur différents échantillons de boues de fosse septique.
- La comparaison de méthodes de mesure et mise au point d'un montage expérimental pour la mesure de l'activité méthanogène dans un contexte de faibles ressources, afin d'évaluer la dégradation d'échantillon de boues de fosse septique.

IV. METHODOLOGIE

IV.1. Approche globale

Le projet consiste à tester l'influence de trois bio-additifs sur la dégradation des boues de fosse septique. Au total, six échantillons de boues vidangées ont été utilisés. Ils ont été récoltés par des camions vidangeurs, et acheminés à la station d'épuration de Beauport de la ville de Québec. Une fois récoltés, les échantillons ont été entreposés en chambre froide à une température contrôlée de 4°C, le temps de mettre en place la logistique nécessaire pour le lancement des tests. Pour tous les essais réalisés dans cette étude, les expériences ont été lancées la même journée que l'échantillonnage. Ce dernier étant fait le matin, les essais débutent dans l'après-midi. Cependant, dans le cas où l'expérience ne pourrait pas être lancée le jour même, la possibilité de maintenir l'intégrité de l'échantillon sur une période de temps prolongée a été recherchée. Le lancement d'un test Oxitop® a été fait pour vérifier l'effet de la congélation sur la conservation d'un échantillon de boue de fosse septique. En effet, selon Pognani et al. (2012), 50mL d'échantillon ont été congelés pendant plusieurs jours, à -18°C. En parallèle, 50mL du même échantillon ont été conservés à 4°C, pendant la même période de temps. Chaque échantillon est analysé en triplicata. Avant de débiter l'expérience, l'échantillon a été décongelé à la température de la pièce pendant douze heures. Dans le cadre de ce test, les résultats obtenus pour les échantillons congelés/décongelés n'ont pas été concluants car sur la période de mesure, l'activité méthanogène a été nulle contrairement aux échantillons conservés à 4°C. L'idée de congélation des échantillons de boue de fosse septique, pour la conservation sur le long terme, a donc été abandonnée. Une attention particulière a donc été portée sur le respect des délais et la température de conservation. Pour toutes les expériences sans exception, le délai n'a pas excédé une dizaine d'heures après l'échantillonnage. Trois bio-additifs ont été achetés et ont été testés sur plusieurs échantillons de boues de fosse septique. Pour évaluer leur rôle dans la dégradation des déchets contenus dans les fosses septiques, plusieurs analyses ont été réalisées telles que les solides totaux, les solides volatils, la demande chimique en oxygène, la réduction des coliformes fécaux et la mesure de l'activité méthanogène. Les expériences menées ont simulé une fosse septique statique (*i.e.* traitement en batch) avec des conditions favorables pour l'activité de la biomasse méthanogène mésophile. La plage de température optimale pour le développement de la biomasse mésophile a été choisie afin de favoriser la digestion anaérobie et optimiser ainsi les processus de dégradation, réduisant également le temps des expériences. Cette condition de température n'est bien évidemment pas réaliste d'un contexte de fosse septique au Canada, où les conditions climatiques sont plus froides sur une longue partie de l'année. Cette

approche a été choisie du fait de sa simplicité et de sa faisabilité pour l'identification des paramètres pertinents pouvant être inclus dans des tests à grande échelle. Le second volet du projet a été la mise en place des méthodes analytiques de mesure fiables, peu chères, facilement transportables et réparables afin de pouvoir réaliser des mesures de l'activité méthanogène sur le terrain dans des contextes difficiles, où les ressources sont limitées. Deux méthodes expérimentales (*i.e.* montage *BMP* v.2 et montage *Seringue*) de mesure de la production de méthane par la biomasse ont été testées. L'intérêt ici a été porté sur la mesure de la digestion anaérobie et non sur l'activité maximale que peut produire un échantillon comme lors des tests SMA. Ces méthodes analytiques conçues en laboratoire sont destinées à être utilisées sur le terrain pour tester l'éventuel rôle des bio-additifs vendus. La réalisation d'une première série de tests, avant des analyses plus poussées, permettrait de mettre en lumière l'effet des traitements proposés pour l'amélioration de la dégradation des boues de fosse septique. Les résultats obtenus ont été exploités grâce à l'étude statistique afin de vérifier les hypothèses formulées concernant le véritable effet des bio-additifs sélectionnés, sur les échantillons de boues de fosse septique ainsi que la fiabilité des montages expérimentaux conçus en laboratoire.

IV.2. Évaluation de l'effet des bio-additifs

IV.2.1. Les bio-additifs choisis

Les trois bio-additifs choisis ont été achetés à Canadian Tire®, avant le début des expériences. Après étude de l'offre proposée dans différents commerces, le choix s'est arrêté sur ces trois produits car ils semblaient être bien répandus au niveau de la vente. Lors de cette étude, ces trois bio-additifs destinés au traitement des fosses septiques ont donc été testés : Greenpig®, Sealand® et Septonic®. Ces bio-additifs sont constitués principalement d'enzymes et de bactéries, dont l'action est supposée décomposer ou accélérer la décomposition des déchets domestiques présents dans les fosses septiques (*i.e.* solides et graisses). La composition des bouteilles incubées pour chaque condition est la suivante :

Témoin (50mL de boue de fosse septique + 2mL eau déminéralisée)

Produit 1 (50mL de boue de fosse septique + 2mL Greenpig®)

Produit 2 (50mL de boue de fosse septique + 2mL Sealand®)

Produit 3 (50mL de boue de fosse septique + 2mL Septonic®)

Plus de détails concernant les caractéristiques des trois bio-additifs utilisés sont répertoriés dans le Tableau 2. Les solutions de traitement sont préparées au préalable avant le lancement de l'expérience dans le respect des prescriptions faites par les fabricants (cf. Tableau 4).

Tableau 4 : Caractéristiques des bio-additifs choisis pour l'étude.

Produits de traitement	Format de la dose	Masse de la dose	Volume de réservoir à traiter	Dilution totale appliquée	Volume de traitement appliqué à 50mL d'échantillon
Greenpig®	Sachet soluble	28,35g	3785L	1/150 ^{ème}	2mL
Sealand®	Pastille	25g	3785L	1/150 ^{ème}	2mL
Septonic®	Enveloppe	17,7g	1893L	1/75 ^{ème}	2mL
Témoin	NR	NR	NR	NR	2mL eau déminéralisée

IV.2.1.1. Greenpig®

D'après le fabricant, un sachet permet de traiter un réservoir de 1893L, 3785L ou 5679L. Dans cette étude, nous allons prendre en considération le volume de fosse intermédiaire. L'hypothèse, ici faite, est que le volume de réservoir correspond au volume de boue à traiter. Cette hypothèse s'applique également aux deux autres produits de traitement présentés ci-dessous. Dans un premier temps, un sachet (28,35g) est dissout dans 3L d'eau déminéralisée suivie d'une dilution au 1/50^{ème}. Puis, un volume de 2mL de la solution ainsi préparée est ajouté à 50mL d'échantillon de boue de fosse septique.



Figure 3 : Bio-additif Greenpig® avec ses caractéristiques.

IV.2.1.2. Sealand®

D'après le fabricant, une pastille permet de traiter un réservoir de 3785L. La procédure est similaire à la précédente : une dose (25g) est dissoute dans un volume de 3L d'eau déminéralisée. On réalise une dilution au 1/50^{ème} de la solution obtenue. On ajoute un volume de 2mL au 50mL d'échantillon de boue de fosse septique.



Figure 4 : Bio-additif Sealand® avec ses caractéristiques.

IV.2.1.3. Septonic®

D'après le fabricant, une enveloppe permet de traiter un réservoir de volume de 1893L. Une dose (17,7g) est donc dissoute dans un volume de 3L d'eau déminéralisée et une dilution au 1/25^{ème} est

réalisée. La dilution est plus faible car le but ici est d'ajouter le même volume de traitement dans toutes les bouteilles. Cette méthode permet d'avoir le même espace de tête pour toutes les bouteilles, facilitant ainsi les calculs de volume de méthane produits par la suite.



Figure 5 : Bio-additif Septonic® avec ses caractéristiques.

IV.2.2. La justification des expériences réalisées

Dans le cadre de l'étude menée, le matériel utilisé pour la mesure de l'activité méthanogène a été le système Oxitop®. Le choix a été fait en raison de la disponibilité du matériel au laboratoire et de sa relative simplicité d'utilisation. Cependant, avant de lancer les expériences, il a fallu mettre en place un protocole d'expérience et donc s'assurer de la maîtrise du matériel disponible.

IV.2.2.1. Prise en main du système Oxitop® et élaboration d'un protocole

Plusieurs tests ont été réalisés avec le système Oxitop® afin de comprendre le fonctionnement de l'appareillage et la méthodologie à utiliser. Des expériences préliminaires ont été réalisées avec la méthode Oxitop® pour déterminer la production de méthane dans les échantillons de boue de fosse septique, et ainsi estimer le début de la mesure de la dégradation dans des conditions d'anaérobiose. Plusieurs étapes ont été nécessaires à la mise en place d'un protocole d'expérience de l'utilisation du système Oxitop® en vue d'évaluer l'activité méthanogène. Tout d'abord, la durée optimale d'un test a été recherchée. Ensuite, l'impact de l'utilisation des pastilles de NaOH sur l'activité méthanogène a été évalué selon les informations données dans des sources de la littérature. Enfin, le rôle du lavage de l'espace de tête des montages avec un mélange de gaz inertes a été mis en

évidence. De plus, une méthode de conservation des échantillons a été testée. Les différentes composantes du système Oxitop® sont présentées aux Figure 6, Figure 7, Figure 8 et Figure 9.



Figure 6 : Montage Oxitop pour la mesure de l'activité méthanogène.



Figure 7 : Composantes du col de la bouteille Oxitop.



Figure 8 : Pastilles NaOH NHP600 utilisés pour la mesure de l'activité méthanogène.



Figure 9 : Télécommande d'acquisition OC110.

IV.2.2.1.1. Détermination de la durée d'un test Oxitop®

La détermination de la durée d'un test Oxitop® est primordiale pour pouvoir réaliser un nombre conséquent d'expériences afin d'obtenir suffisamment de données. La durée la plus courte possible a été recherchée tout en gardant le maximum d'informations intéressantes pour l'analyse des données et les conclusions des tests. Plusieurs séries de tests ont été réalisées sur différentes périodes de temps avec des échantillons de boue de fosse septique et deux bio-additifs achetés (Greenpig® et Sealand®). Des périodes de temps de cinq, huit et dix jours ont été utilisées. Contrairement à un test BMP classique durant normalement une trentaine de jours, des périodes de temps d'incubation plus courtes ont été utilisées. Cela a permis de maximiser le nombre d'échantillons à tester tout en prenant en considération les limitations dans le matériel disponible et le temps nécessaire. Un triplicata pour le témoin et les deux bio-additifs a été réalisé. Les trois courbes (cf. Figure 10, Figure 11 et Figure 12) représentent la mesure de la pression à l'intérieur des montages Oxitop® pour des échantillons de boue de fosse septique, pour une période de mesure de cinq jours.

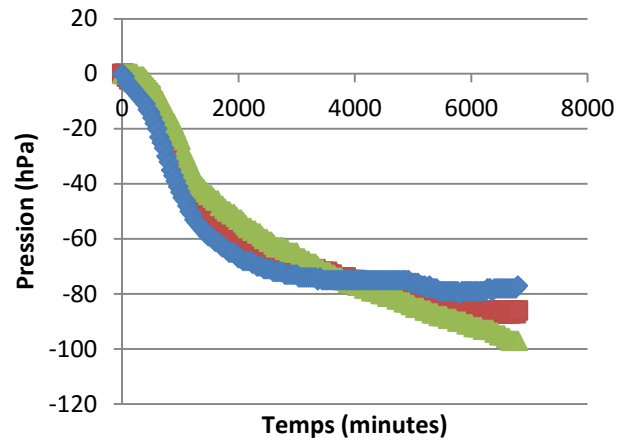


Figure 10 : Courbe de pression du CH₄ pour le triplicata du témoin.

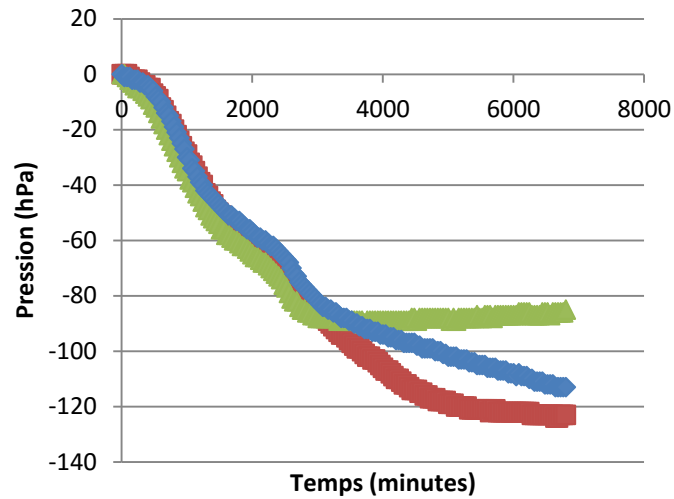


Figure 11 : Courbe de pression du CH₄ pour le triplicata pour Greenpig.

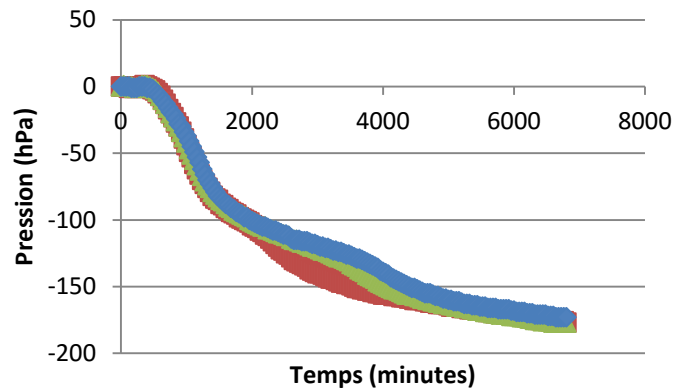


Figure 12 : Courbe de pression du CH₄ pour le triplicata pour Sealand.

L'enregistrement de la pression met en évidence une phase de dépression qui tend à se stabiliser dans les derniers temps de la mesure. Dans cette section, il est question de déterminer la durée

adaptée aux mesures de l'activité méthanogène. L'activité méthanogène sur une période de cinq jours n'est pas suffisante pour que la mesure de la pression de méthane produit soit mesurable par le système Oxitop®. La période de mesure a donc été prolongée.

Une seconde série de tests a été réalisée sur une période de huit jours. L'enregistrement en temps réel a été fait sur cinq jours comme précédemment, puis une mesure ponctuelle a été prise au bout de huit jours, pour connaître la tendance de l'activité méthanogène de la boue de fosse septique à l'intérieur des bouteilles. Les essais réalisés montrent qu'après une période de dépression, la mesure de l'activité méthanogène a débuté trois-quatre jours après le lancement de l'expérience. Malgré des perturbations inexplicables dans la mesure de la pression dans la plupart des échantillons, la pression augmente dans la seconde partie de l'expérience. Cette augmentation de pression correspond à la pression exercée par le méthane produit.

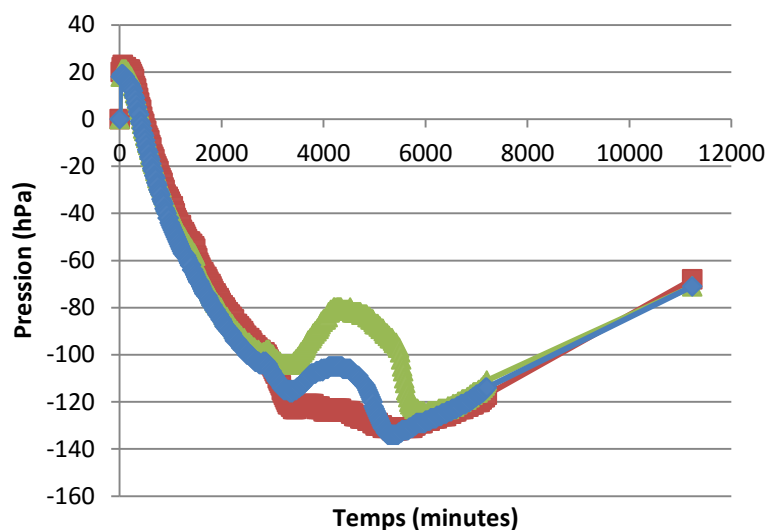


Figure 13 : Courbe de pression du CH_4 pour le triplicata du témoin.

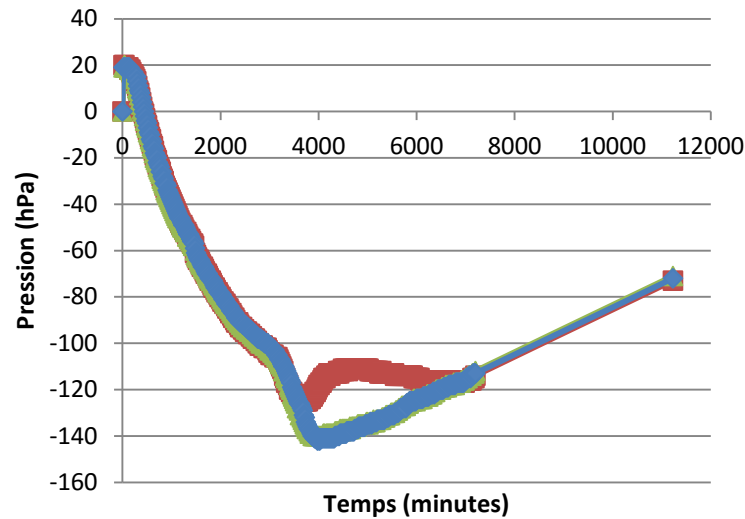


Figure 14 : Courbe de pression du CH_4 pour le triplicata pour Greenpig.

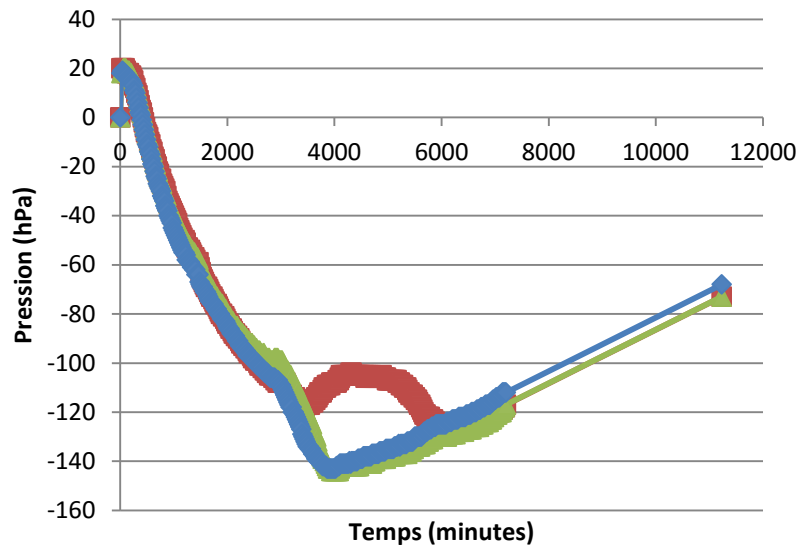


Figure 15 : Courbe de pression du CH_4 pour le triplicata pour Sealand.

Un autre essai a été mis en place sur une période de dix jours. Il a permis de montrer que les perturbations apparues au changement de signe de la courbe de mesure de pression obtenue précédemment (cf. Figure 13, Figure 14 et Figure 15) ne sont pas systématiques. Les mesures obtenues ont permis de confirmer que la pression exercée par l'activité bactérienne responsable de la production de méthane se manifestait au bout de trois jours environ après le lancement de l'incubation (cf. cercle rouge de la Figure 16). Dans les premiers temps de l'expérience, la pression exercée par l'activité méthanogène n'a pas été suffisante par rapport à la consommation pour être mesurable (cf. Figure 16). En l'absence de lavage gazeux de l'espace de tête, cette dépression est expliquée par la consommation de l'oxygène de l'air présent dans l'espace de tête.

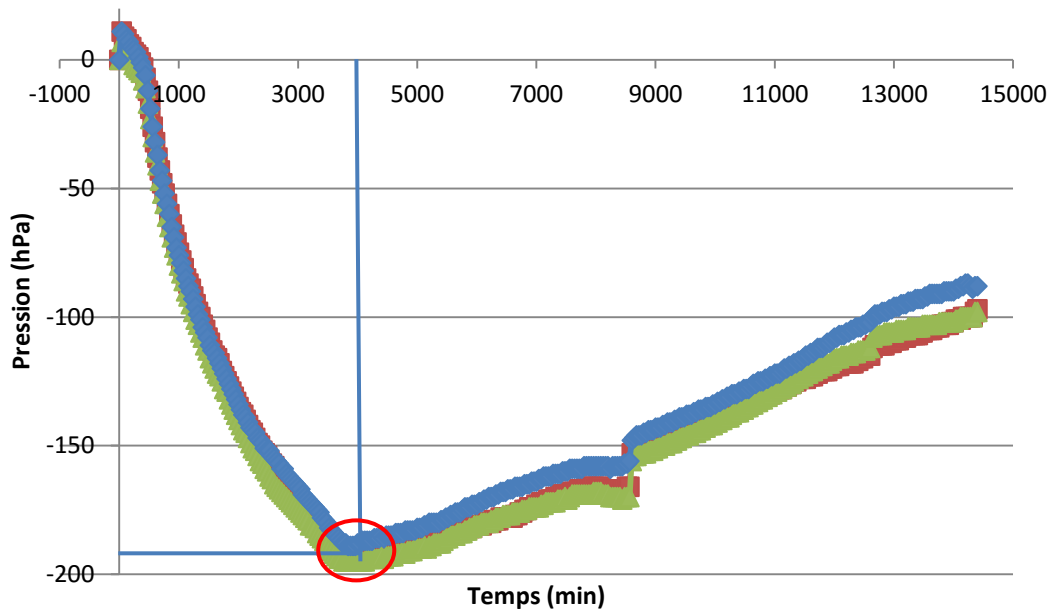


Figure 16 : Démarrage de la mesure de l'activité méthanogène avec le système Oxitop®.

L'hypothèse concernant la nature de cette phase de dépression est expliquée en détails et elle est accompagnée d'un exemple de calcul.

Les trois cercles sur la Figure 17 représentent les moments importants de la mesure de l'activité méthanogène sur la période de l'expérience. Le premier cercle à 4000 minutes (environ trois jours) représente le temps pour lequel la courbe de pression mesurée change de signe, c'est-à-dire que le système Oxitop® commence à mesurer une pression de gaz produit par l'échantillon. Cette durée est considérée, pour toutes les incubations réalisées, comme la durée minimale pour quantifier le méthane produit par l'échantillon de boue de fosse septique. Les deux autres cercles (7200 minutes pour cinq jours d'incubation et 14400 minutes pour dix jours d'incubation) représentent les temps pour lesquels les mesures de pression de méthane produit sont transformées en volume et comparées aux volumes de méthane mesurés par les deux montages expérimentaux.

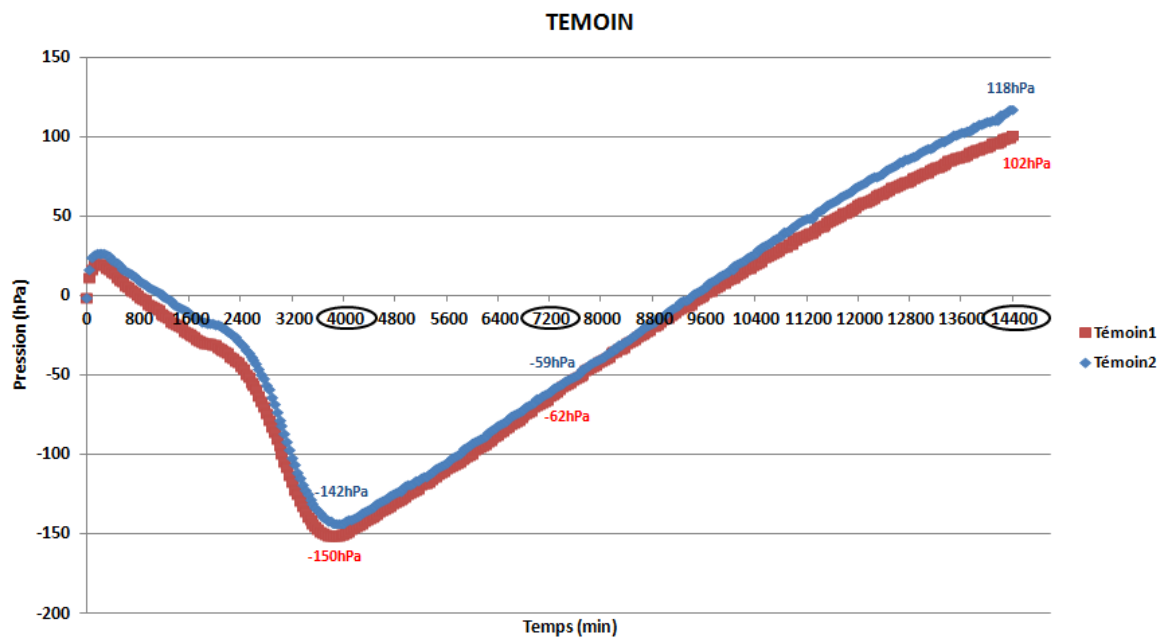


Figure 17 : Courbe de pression du système Oxitop (essai n°3).

Au vu des mesures manométriques enregistrées dans l'enceinte des bouteilles, il a été décidé de travailler sur des différentiels de pression entre les temps $t=5$ jours (7200 minutes) et $t=10$ jours (14400 minutes), afin de se soustraire à la dépression engendrée dans les premiers jours de l'expérience. Toutes les courbes de pression obtenues sont marquées par une phase de latence d'environ trois jours, après le lancement des essais. Une hypothèse a été émise concernant ce phénomène. Cette phase de dépression à l'intérieur des bouteilles correspondrait à la consommation d'oxygène contenu dans l'espace de tête par la biomasse présente. Dans le même temps, la biomasse responsable de la digestion anaérobie aurait quant à elle produit du méthane. L'activité méthanogène possédant une cinétique plus lente, le capteur manométrique a donc enregistré une pression décroissante. Cette hypothèse a pu être appuyée notamment grâce au calcul du volume de gaz consommé pendant cette période, donné par le système Oxitop®. Ce volume de gaz consommé correspond au volume de méthane produit pendant cette période soustrait à la consommation de l'oxygène contenu théoriquement dans l'espace de tête (*i.e.* environ 21%).

Un exemple de calcul est expliqué ici. Pour la courbe ci-dessus (cf. Figure 17), la phase de latence se termine au bout de 4000 minutes exactement (2 jours, 18 heures et 40 minutes) et la dépression engendrée dans les deux bouteilles est de -150hPa pour le témoin 1 et -142hPa pour le témoin 2. Le volume d'espace de tête laissé libre, après ajout de 50mL d'échantillon de boue de fosse septique et de 2mL d'eau déminéralisée, est de 257mL exactement. D'après la loi de Boyle-Mariotte, la pression peut être transformée en volume de gaz. Pour le témoin 1, le volume de gaz consommé équivaut à 33mL et pour le témoin 2, à 31,6mL. La proportion de l'oxygène atmosphérique est de

21% environ, le volume d'oxygène contenu dans la bouteille est donc d'environ 54mL (21% de 257mL). La différence entre les 54mL d'oxygène consommé et la dépression mesurée par le système Oxitop® (environ 54-32=22mL) correspondrait au volume de méthane déjà produit durant cette période. En formulant l'hypothèse que le volume de méthane produit est constant dans le temps, durant la période de l'expérience, le volume de méthane produit, pendant la phase de dépression, peut être retrouvé par calcul. Sur une même période de temps, c'est-à-dire 4000 minutes, le méthane produit est de 25mL pour le témoin 1 et de 24mL pour le témoin 2. Les deux volumes calculés sont relativement proches de ce qui était calculé.

D'après les observations faites, les expériences ont donc été réalisées sur des périodes d'une dizaine de jours pour englober le démarrage de l'activité méthanogène et une dégradation des échantillons de boue de fosse septique. De plus, cette période permet également de prendre en considération le temps de séjour hydraulique moyen dans une fosse septique durant lequel le bio-additif ajouté resterait dans la fosse septique. La plupart des auteurs (Elmitwalli 2013 ; Lossing et al. 2010 ; Gray 1995) préconisent un temps de séjour hydraulique d'au minimum deux jours, voire trois jours.

Le temps de résidence a été testé pour évaluer l'effet du traitement par rapport à la dégradation naturelle microbienne. Les échantillons de boues de fosse septique ont été incubés à une température constante de 35°C et sans agitation. Cette température a été établie et validée grâce à un enregistreur de température (cf. Figure 18), afin de rechercher les conditions optimales pour l'activité méthanogène mésophile. Ce paramètre ne traduit en aucun cas la réalité du terrain, mais il maximise la croissance des bactéries capables de dégrader les déchets contenus dans les échantillons de boue de fosse septique. Une température plus importante permet également d'augmenter la cinétique à l'intérieur des boues de fosse septique et donc de réduire les temps de l'expérience. Les analyses menées sur chacun des essais ont permis de caractériser cette évolution de la dégradation des boues de fosse septique dans le temps.



Figure 18 : Enregistreur de température utilisé lors des tests.

Selon certaines études menées sur la digestion anaérobie, une part considérable de méthane produit est soluble dans le liquide, plus spécifiquement dans les systèmes conditionnés à hautes pressions (*i.e.* méthodes de mesures manométriques). Certains auteurs (Hartley & Lant 2006) pensent que la solubilisation du CH₄ dans l'échantillon n'est pas négligeable. Ainsi pour éviter ce phénomène, et

ne pas perdre de méthane, le volume a été fixé à 50mL pour laisser un espace de tête libre au-dessus de l'échantillon suffisant. Ce volume de boue a été choisi pour faire le compromis entre l'espace disponible dans la bouteille, une fois la tête de mesure en place, et le volume d'échantillon nécessaire. De plus, il permet de réduire le temps d'incubation de l'échantillon et ainsi obtenir plus de résultats pour les analyses des données.

IV.2.2.1.2. *Impact de l'utilisation des pastilles de NaOH*

Lors de la digestion anaérobie, les principaux gaz produits sont le dioxyde de carbone et le méthane. Ici, seulement le méthane est pris en considération. Un agent absorbant est donc utilisé pour capter le dioxyde de carbone produit. Des pastilles de NaOH sont utilisées pour capter le CO₂, la mesure de pression est ainsi faite seulement sur le CH₄. Dans le système Oxitop®, une nacelle se trouvant en-dessous de la tête de mesure (cf. Figure 6) permet d'accueillir les pastilles de NaOH (cf. Figure 8). Cependant, d'après Pereira, Castañares, and Lier (2012), l'utilisation de pastilles de NaOH dans l'espace de tête de la bouteille affecte négativement la stabilité du test, augmentant le pH et inhibant ainsi la méthanisation. Les tests effectués ont été réalisés afin de déterminer l'effet des pastilles de NaOH sur la méthanisation. Le pH a été contrôlé à l'aide de papier pH, au début et à la fin du test. Les échantillons de boue de fosse septique utilisés possédaient 6 à 8 unités de pH. Les essais ont été réalisés sur une période de dix jours et en triplicata. Le plan d'expérience pour ce test est présenté au Tableau 5. La solution nutritive utilisée permet d'apporter les nutriments essentiels au développement optimal des microorganismes anaérobies (Angelidaki et al. 2007). Cette précaution a été prise afin de permettre un démarrage rapide de l'activité méthanogène dans les bouteilles. Lors des tests d'évaluation de l'activité méthanogène, pour l'évaluation du rôle des bio-additifs, la solution nutritive n'a pas été utilisée. Aucune solution nutritive n'est utilisée dans les fosses septiques.

Tableau 5 : Plan d'expérience pour le rôle des pastilles de NaOH.

Mesure du CO ₂ +CH ₄	Mesure du CH ₄
50mL de BFS 15mL d'eau déminéralisée 15mL de solution nutritive	50mL de BFS 15mL d'eau déminéralisée 15mL de solution nutritive Pastille de NaOH (espace de tête)

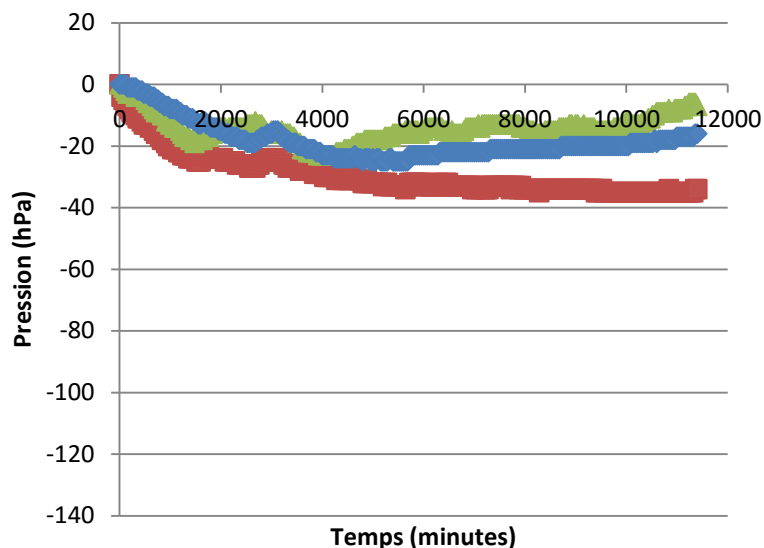


Figure 19 : Test d'utilisation sans pastille de NaOH (mesure du biogaz).

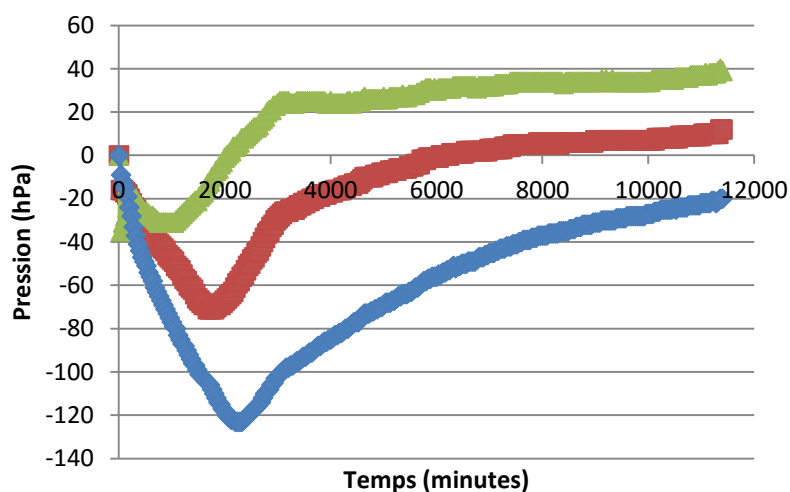


Figure 20 : Test d'utilisation avec pastilles de NaOH (mesure du CH_4).

Ici, l'utilisation du système Oxitop® a permis de mettre en évidence l'activité méthanogène avec un agent absorbant le CO_2 . Les deux graphiques présentés montrent que la pression enregistrée est plus importante en l'absence de pastilles de NaOH dans la nacelle du système Oxitop® (cf. Figure 19 et Figure 20). Le CO_2 dégagé lors de la digestion anaérobie est comptabilisé dans la mesure de pression. Le rôle de l'agent absorbant est donc nécessaire dans la mesure du méthane produit. Le graphique en Figure 20 a été obtenu à cause d'une mauvaise manipulation lors de l'introduction de l'échantillon de boue de fosse septique avant le lancement des tests et non à cause de l'utilisation des pastilles de NaOH. Une homogénéisation insuffisante a provoqué des mesures de pression avec des facteurs différents. La phase de dépression dans l'enceinte de la bouteille a été plus importante et brutale lorsque les pastilles de NaOH sont présentes dans la bouteille (cf. Figure 20). La

dépression enregistrée par le système Oxitop®, dans la Figure 19, est moins marquée car la production du CO_2 en plus du méthane permet de compenser la pression mesurée pour le CH_4 . D'après les observations faites lors de cette expérience, l'effet néfaste des pastilles de NaOH dans l'activité méthanogène n'a pas été mis en évidence. L'utilisation de pastilles de NaOH pour l'absorption du CO_2 permet de limiter les difficultés liées à la mesure de l'activité méthanogène. Si l'utilisation du NaOH avait été bannie, l'analyse de la composition du biogaz aurait dû être faite afin de connaître la proportion de méthane dans les gaz recueillis.

IV.2.2.1.3. *Influence du lavage de l'espace de tête avec un mélange de gaz inertes*



Figure 21 : Bouteille de gaz inertes (CO_2/N_2).

Pour cette section, un lavage des espaces de tête a été effectué avec un mélange de gaz inertes (CO_2/N_2) afin d'éliminer les gaz capables d'interférer avec les processus de méthanisation. Cependant, l'ajout d'une quantité supplémentaire de CO_2 dans la bouteille devrait affecter la pression initiale. Un phénomène de dissolution dans l'échantillon devrait se produire et donc affecter la mesure de pression. Pour vérifier cette hypothèse, le lavage de l'espace de tête a été réalisé grâce à une bouteille achetée dans un magasin dédié à la conservation des vins (cf. Figure 21). Ce lavage de l'espace de tête a pour but d'expulser les gaz présents dans l'air qui se trouvent dans l'espace laissé libre de la bouteille au-dessus de l'échantillon. Le mélange de gaz inertes crée une « nappe » qui va isoler l'échantillon de l'air ambiant et ainsi permettre la mesure du méthane produit dès le lancement de l'expérience. Dans l'industrie des spiritueux, cette technique est largement répandue pour leur conservation et éviter leur détérioration par oxydation. Pour un même échantillon de boue de fosse septique, un triplicata a été réalisé sans lavage gazeux de l'espace de

tête et un second triplicata avec lavage de l'espace de tête. La mesure de pression dans les deux cas est représentée à la Figure 22.

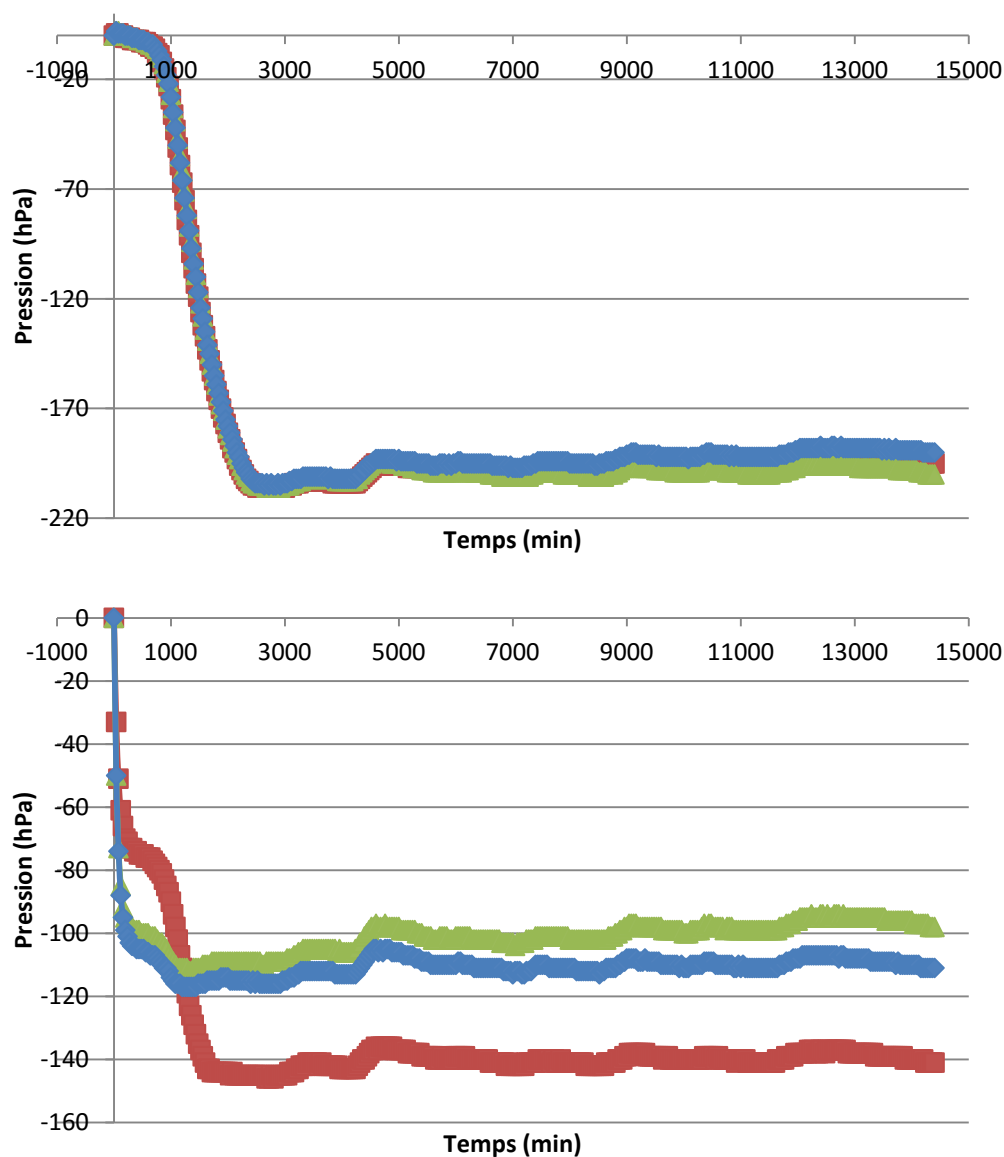


Figure 22 : Mesure de la pression avec (en bas) et sans (en haut) lavage de l'espace de tête (système Oxitop®).

Dans les toutes premières heures de l'expérience, une dépression brutale a été enregistrée pour le triplicata avec le lavage de l'espace de tête. Cela s'explique par l'absorption de la portion de dioxyde de carbone présent dans le mélange de gaz inertes, par les pastilles de NaOH présentes dans la nacelle du système Oxitop®. De plus, les courbes de ce même triplicata présentent des différences significatives. Elles ne sont pas répétables.

À partir de ces observations, les expériences ont été menées sans lavage de l'espace de tête. La conséquence principale de cette modification entraîne une phase de latence durant laquelle le méthane produit, s'il y en a, n'est pas quantifié. L'hypothèse de cette dépression dans les premiers temps de l'expérience est la consommation de l'oxygène contenu dans l'espace de tête. Cette consommation d'oxygène entraîne une dépression, à l'intérieur des bouteilles, plus importante que la production de méthane. Ce phénomène a donc empêché d'évaluer le volume de méthane produit sur cet intervalle de temps. Un exemple de calcul, pour étayer cette hypothèse, est présenté à la section V.3.4.

IV.2.2.1.4. Vérification de l'aspect anaérobie des boues de fosse septique

Une vérification supplémentaire a été faite concernant la concentration en oxygène dissous à l'intérieur des échantillons de boue de fosse septique (cf. Figure 23). Cette expérience a permis d'évaluer la consommation d'oxygène par les échantillons de boue de fosse septique selon le volume de l'espace de tête laissé libre dans la bouteille. Deux bouteilles ont été incubées à 35°C pendant une période de quatre jours. Une des deux bouteilles a été remplie avec 50mL d'échantillon de boue de fosse septique alors que la seconde a été remplie sans laisser d'espace de tête. La concentration en oxygène dissous a été mesurée tous les jours avec une sonde HACH™ LDO® à oxygène dissous avec une résolution de 0,01 mg/L. La précision de la sonde est de $\pm 0,1$ mg/L pour des valeurs inférieures ou égales à 8 mg/L, de $\pm 0,2$ mg/L pour des valeurs strictement supérieures à 8 mg/L et inférieures ou égales à 20 mg/L, et $\pm 10\%$ de la valeur mesurée pour des valeurs strictement supérieures à 20 mg/L. Les résultats ont été reportés sur le graphique à la Figure 23.

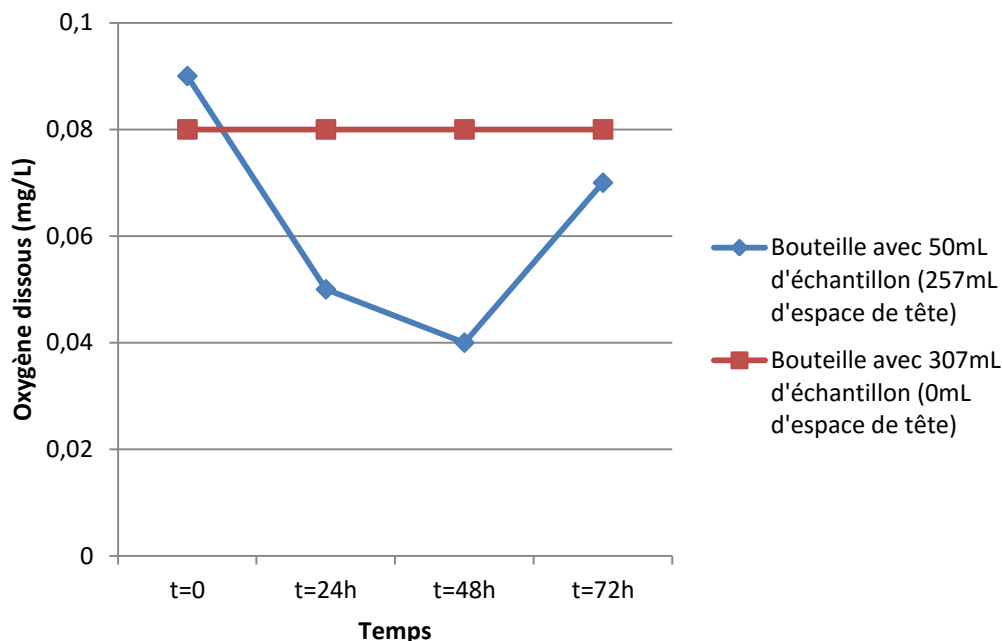


Figure 23 : Oxygène dissous dans l'échantillon de boue de fosse septique (essai 3).

D'après les mesures réalisées, les échantillons de boue de fosse septique contiennent une quantité d'oxygène dissous négligeable. Malgré la différence de volume d'espace de tête laissé libre entre les deux bouteilles, la concentration en oxygène dissous ne varie pas de manière significative sur la durée du test. Cette expérience permet, dans un premier temps, de valider l'aspect anaérobie des échantillons de boue collectés ainsi que le faible impact du volume de l'espace de tête sur la concentration en oxygène dissous dans les échantillons. Cependant, la quantité d'oxygène contenu dans l'espace de tête est consommée lors des incubations réalisées. Dans les premiers jours de l'expérience, cet oxygène est utilisé par la biomasse pour la dégradation de l'échantillon. C'est pour cela qu'une phase de latence de dépression a lieu dans chacun des essais réalisés.

IV.2.2.2. La réalisation des expériences

Trois produits différents et un témoin ont été testés en duplicata. Des bouteilles stériles à serum Fischerbrand™ en verre de 250mL ont été utilisées. Pour constituer des groupes d'unités expérimentales aussi homogènes que possible, chaque bouteille a été remplie avec 50mL d'échantillon puis répartie de manière aléatoire à l'intérieur de chacun des groupes et indépendamment d'un groupe à l'autre, pour éviter les erreurs de mesure dues au phénomène de bloc. L'objectif est de gagner de la précision en réduisant la variabilité aléatoire. Il y a ainsi une variabilité moindre à l'intérieur des groupes formés par rapport à la variabilité de l'ensemble du matériel disponible. Ensuite, à l'aide d'une micropipette de précision Fisherbrand™ (Finnpipette™

II Adjustable-Volume Pipetters), 2mL d'eau déminéralisée ont été ajoutés pour le témoin, et 2mL de bio-additif pour chacun des produits utilisés. Les bio-additifs injectés ont été dilués afin de respecter le ratio prescrit par les fabricants (cf. Tableau 4). Le volume de 2mL a été choisi afin de minimiser l'effet de dilution de l'échantillon de boue de fosse septique. Avant le lancement de chaque expérience, la micropipette utilisée pour introduire les 2mL est vérifiée. La vérification est faite à l'aide d'une balance de précision (cf. Figure 49). Pour vérifier le volume prélevé et versé par la micropipette, 2mL d'eau nano pure sont pipetés puis versés dans un contenant préalablement et minutieusement lavé et taré sur la balance de précision. Si le résultat donné par la balance correspond à 2 g avec une erreur inférieure à 1% et à la précision de la balance (*i.e.* 10^{-4}), la micropipette est considérée comme délivrant un volume exact. Cette vérification permet d'avoir une confiance dans le volume réel délivré par la micropipette. Avec le temps, l'appareillage de laboratoire nécessite une attention particulière, et certains tests de vérification permettent de garder confiance dans le matériel utilisé. Ensuite, chaque bouteille est placée pendant une durée déterminée (cinq ou dix jours), à une température contrôlée de 35°C, sous des conditions anaérobiques. Pour assurer cette température constante sur l'intégralité de l'expérience, un incubateur à DBO VWR™ respectant les normes de l'APHA (1999) a été utilisé (cf. Figure 60). Ce dernier a été préalablement réglé à la température désirée. La précision de l'incubateur a été vérifiée grâce à un enregistreur de température (cf. Figure 18). Pour respecter les conditions favorables à l'activité bactérienne anaérobie, chaque bouteille est fermée hermétiquement. Les mesures ont été réalisées à trois temps différents : (1) avant le lancement de l'expérience ($t=0$), (2) à mi-expérience ($t=5$ jours) et (3) à la fin de l'expérience ($t=10$ jours) (cf. Tableau 6). Les échantillons qui subissent un temps d'incubation de dix jours ont été également suivis par la méthode Oxitop®. Cette méthode consiste à mesurer la pression créée dans l'enceinte de la bouteille qui correspond à un volume de méthane produit. La méthode de mesure et l'instrumentation utilisées sont détaillées dans la partie explicative de la méthode dans la partie IV.3.1 et en annexes 1 et 6. Toutes les bouteilles incubées aux trois temps ont été analysées pour connaître la quantité de solides dégradés (*i.e.* solides totaux et solides volatils), l'abattement de la matière organique (*i.e.* DCO), le nombre de coliformes fécaux, ainsi que le volume de CH_4 produit. Toutes ces méthodes de mesure sont détaillées dans la section IV.2.2.3.

IV.2.2.3. Protocoles des analyses et matériel utilisé

Pour évaluer l'effet de ces bio-additifs, plusieurs paramètres ont été analysés et comparés avec les résultats obtenus avec le témoin, où à la place du produit de traitement, 2mL d'eau déminéralisée a été ajoutée pour simuler la dégradation naturelle de la boue de fosse septique. Les résultats ont

permis de mener une étude statistique pour vérifier les hypothèses formulées. Plusieurs paramètres ont été analysés lors de ces expériences, mais les deux plus importants pour l'étude de l'effet du traitement des bio-additifs concernent la réduction des solides et la réduction de la matière organique. Ces deux paramètres vont permettre de vérifier les spécifications données par les fabricants (cf. Tableau 2). Néanmoins, d'autres paramètres ont été analysés dans le but de compléter l'étude concernant la dégradation des échantillons de boue. Pour chaque paramètre analysé, des répliques ont été réalisés et ce pour les différents bio-additifs testés ainsi que le témoin, aux différents temps d'incubation.

IV.2.2.3.1. La réduction des solides : solides totaux et solides volatils

La réduction des solides a été évaluée grâce à la méthode des sections 2540-B et 2540-E du *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater (20th Edition)* 1999 pour les solides totaux séchés à 103-105°C et les solides volatils calcinés à 550°C respectivement (cf. annexe 2).

Après des tests préliminaires, le volume d'échantillon prélevé pour chaque analyse est de 10mL, afin de satisfaire la gamme des exigences de la méthode (2,5 à 200mg de résidu final). Ces analyses ont été réalisées en duplicata pour chacun des bio-additifs et le témoin.

IV.2.2.3.2. La réduction de la matière organique : demande chimique en oxygène (DCO)

La mesure de la demande chimique en oxygène totale a été faite grâce à la méthode HACH 8000 avec le réacteur DRB 200 et le spectrophotomètre HACH DR 5000 (HACH Company). Les détails de la méthode utilisée sont en annexe (annexes 3 et 4).

IV.2.2.3.3. La réduction des coliformes fécaux

La méthode utilisée pour le dénombrement des coliformes fécaux est celle de la filtration sur membrane (Ayres & Mara 1996). Pour ce paramètre, les résultats sont exploités en réduction de coliformes fécaux et traités après transformation logarithmique. Les détails de la méthode sont expliqués en annexe 5.

IV.2.3. Plan expérimental

Chaque bio-additif et témoin ont été réalisés en duplicata, c'est-à-dire que pour un temps d'incubation donné, il y a huit bouteilles. Les analyses concernant les solides totaux, les solides

volatils et la demande chimique en oxygène ont été réalisées en duplicata pour chaque traitement et pour chaque temps d'incubation. Les coliformes fécaux ont été quant à eux réalisés en triplicata pour respecter la méthode donnée par Ayres & Mara (1996).

L'évaluation de l'activité anaérobie a été faite sur la période complète d'incubation (*i.e.* 10 jours), grâce au système de mesure manométrique Oxitop®. La mesure a été faite en duplicata pour chaque bio-additif et le témoin. Cette mesure a été menée en simultanée avec la mesure du méthane des montages expérimentaux. De cette manière, les répliques du « Témoin » réalisés avec l'Oxitop® ont permis de faire une comparaison avec les répliques réalisés avec les deux montages expérimentaux.

Pour l'évaluation de l'influence de bio-additifs sur la dégradation des boues de fosse septique, les détails concernant le plan expérimental des expériences sont illustrés dans le Tableau 6.

Tableau 6 : Plan expérimental des expériences.

TEMPS D'INCUBATION	Témoin	Greenpig®	Sealand®	Septonic®
0 jour	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH
5 jours	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH
10 jours	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH ; CH ₄	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH ; CH ₄	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH ; CH ₄	ST/SV ; DCO ; coliformes fécaux ; pH ; CH ₄

La mesure du pH a été faite à titre de contrôle. Du fait de la sensibilité de l'activité méthanogène aux variations de pH, ce dernier a été contrôlé tout au long de l'expérience. Les vérifications ont été faites à l'aide de papier pH.

IV.3. Conception de méthodes de mesure du méthane

Deux méthodes analytiques de mesure de l'activité méthanogène conçues en laboratoire sont présentées dans cette section. La quantification du méthane produit a été faite en utilisant deux

méthodes de mesure volumétriques. Les deux montages expérimentaux fabriqués et utilisés ont été nommés *BMP v.2* et *Seringue*. Le cheminement pour l'obtention des prototypes finaux et les tests de fiabilité utilisés sont détaillés pour chacun des deux montages. L'objectif principal des méthodes élaborées était de concevoir une méthode de mesure capable de produire des résultats de qualité, mais avec des ressources moindres, c'est-à-dire du matériel de laboratoire ou non, facilement disponible, et peu cher. Lors de la conception des différents prototypes, tout le matériel de laboratoire utilisé est peu onéreux et facilement disponible. Une présentation des dépenses engendrées pour la conception des montages expérimentaux a été faite pour valider cet aspect de la recherche. Au début de la fabrication des montages, une vérification de la résistance des matériaux aux réactifs chimiques corrosifs a été effectuée. Une seringue a été remplie de NaOH liquide à 3% (*i.e.* la solution utilisée pour les tests BMP). Elle a été entreposée dans un lieu sûr, pendant plusieurs semaines, pour évaluer la résistance des matériaux dans le temps, et valider ainsi l'utilisation de ces seringues pour ce genre de test. Après plusieurs semaines, la seringue n'a pas été altérée par le contenant. La compatibilité entre le nylon des embouts utilisés (cf. Figure 30) pour le montage BMP v.2 et la solution de NaOH à 3% a également été testée. Une bouteille en HDPE rigide contenant de la solution de NaOH à 3% a été placée en lieu sûr, en position renversée, bouchon vers le bas. Après plusieurs semaines, aucune fuite ni altération majeure n'ont été remarquées. La seule observation faite est une décoloration des embouts en contact avec la solution basique, sans toutefois affecter leur rigidité.

IV.3.1. Montage BMP v.1

Un des deux montages est inspiré du test BMP (Biochemical Methane Potential) qui mesure le potentiel de méthane produit par l'activité bactérienne (cf. annexe 7). Le montage conçu reprend le même principe, c'est-à-dire une mesure de gaz par déplacement de volume. L'échantillon est placé dans la bouteille de gauche connectée à une autre bouteille contenant du NaOH à 3%. Le gaz produit par l'échantillon déplace le volume correspondant de NaOH (cf. Figure 24). Dans le cas d'une boue de fosse septique, en condition anaérobie, le CO₂ est absorbé par le NaOH et le méthane déplace le volume de liquide correspondant.

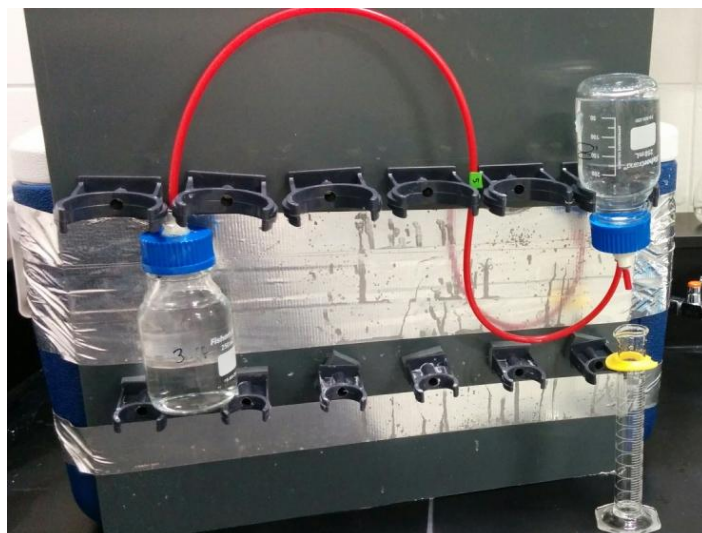


Figure 24 : Montage du test BMP v.1.

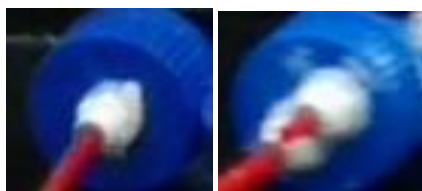


Figure 25 : Connexion du montage BMP v.1.

Le matériel à disposition au laboratoire avant le lancement des tests est le suivant : huit éprouvettes graduées, quinze bouteilles à serum Fischerbrand™ en verre de 250mL et neuf connexions. Pour les tests réalisés, le montage présenté à la Figure 24 est considéré comme la version 1, il a donc été appelé par la suite montage *BMP v.1*. Pour le montage BMP v.1, une connexion correspond à la tubulure rouge reliant les deux bouchons bleus GL45 (cf. Figure 25). L'assemblage a été fait à l'aide de silicone. Les connexions ont été numérotées de 1 à 9. Cette numérotation a été gardée tout au long des expériences ainsi que dans la présentation des données. Après vérification de l'état du matériel, neuf montages ont pu être mis en place. Malgré le fait que la connexion n°6 présentait des défauts, elle n'a pas été éliminée des tests ultérieurs.

IV.3.2. Mise en place des tests de fiabilité

Les montages BMP sont destinés à mesurer un dégagement gazeux sur une période de temps de plusieurs jours. Du fait de la difficulté à mettre en place des tests de dégagement gazeux d'un volume connu sur plusieurs jours, un test de récupération rapide de gaz et un test de pertes hydrostatiques ont été mis en place. Ces deux tests ont permis de mettre en évidence à la fois l'étanchéité des montages au gaz ainsi que leur capacité à garder l'intégrité de l'échantillon (i.e. aucun échange avec l'extérieur). La première étape a donc été de tester les neuf montages BMP v.1

disponibles (cf. Figure 24), en termes de pertes hydrostatiques sur une période de temps de plusieurs jours et de fuites gazeuses sur une période de temps plus courte (*i.e.* quelques minutes voire quelques dizaines de minutes). Par la suite, ces deux tests ont été utilisés pour évaluer la fiabilité des montages conçus en vue de leur validation. Ce moyen de contrôle a également pour but de valider la robustesse des montages avant le lancement de test sur le terrain où les conditions sont différentes du laboratoire, pour une meilleure confiance dans les résultats obtenus.

IV.3.2.1. Pertes hydrostatiques

Pour évaluer l'impact des fuites sur le long terme, les bouteilles ont été remplies entièrement d'eau, c'est-à-dire que la présence de gaz est supposée être nulle dans le montage. Ce dernier est placé comme pour un test BMP classique pour tester l'activité méthanogène d'un échantillon. Une fois le montage en place, le liquide à l'intérieur de la bouteille ne doit pas s'écouler car aucune pression ne s'exerce. Cette expérience a permis d'évaluer les montages susceptibles d'avoir une instabilité dans l'écoulement du liquide contenu dans la bouteille renversée. Les résultats ont été obtenus après cinq jours de test. Le volume recueilli dans l'éprouvette graduée correspond au volume de pertes hydrostatiques du montage. Ce test permet d'évaluer le volume recueilli, mais qui ne correspond pas à un dégagement de gaz lors d'une mesure de l'activité méthanogène classique.

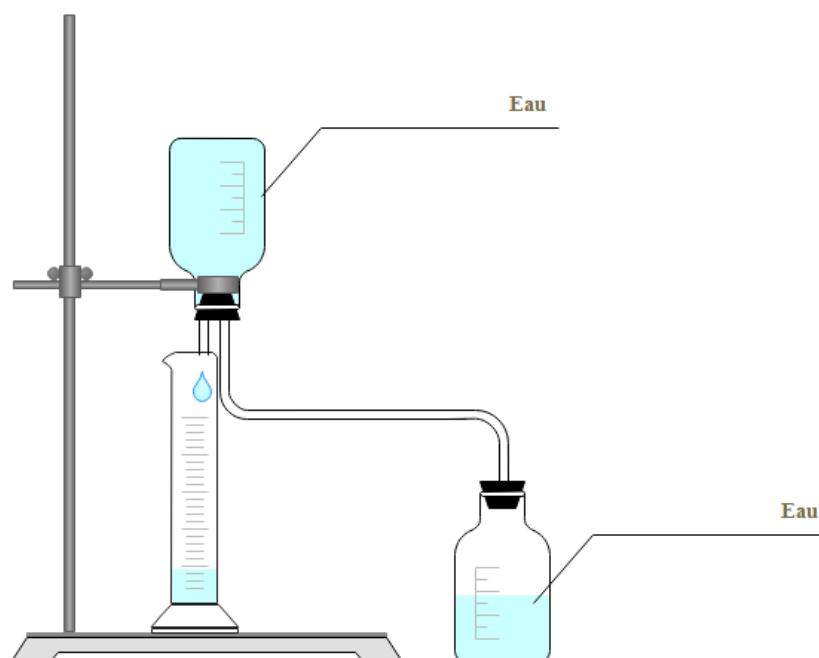


Figure 26 : Schéma du montage pour les pertes hydrostatiques.

Ce test est complémentaire à la récupération de gaz. La réalisation de ces deux tests permet d'avoir une certaine confiance dans les montages utilisés. Un montage qui ne présente pas de fuites lors du

IV.3.2.2. Tests d'effervescence

IV.3.2.2.1. Test d'effervescence n°1

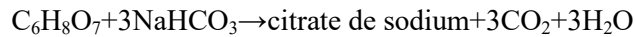
Eau déminéralisée

Acide citrique

Bicarbonate de sodium

Figure 27 : Schéma du premier test d'effervescence.

$$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7/\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7^{3-}$$
 $\text{H}_2\text{O}, \text{CO}_2/\text{HCO}_3^-$



Les données sur les réactifs chimiques à disposition sont les suivantes :

C₆H₈O₇ : M=192,124g/mol ; d=1,665g/cm³ ; pureté=99,5%

NaHCO₃ : M=84,0007g/mol ; d=2,20g/cm³ ; teneur du produit sec=99,7%

Dans la réaction ci-dessus, le réactif limitant est le NaHCO₃. Le volume de CO₂ est déterminé pour estimer le dégagement gazeux. Pour l'estimation, il a été choisi de prendre 100mg d'acide citrique et donc au moins 130mg de bicarbonate de sodium ont été nécessaires pour respecter la stœchiométrie. Chacun des réactifs a été introduit sous forme de solution d'un volume de 125mL chacune. Des solutions de 1L ont été préparées à partir de ces réactifs, afin d'avoir suffisamment de volume de solution pour réaliser le lavage préalable de la verrerie. Ensuite les deux solutions ont été mélangées pour obtenir un dégagement d'un volume de CO₂. Neuf montages différents ont été utilisés. Cependant, tous les montages n'ont pas été testés par manque de confiance dans le test d'effervescence utilisé ici.

Les calculs pour connaître le volume de CO₂ produit sont les suivants :

$$n_{\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7} = \frac{0,100\text{g}}{192,124\text{g/mol}} = 5,20 \cdot 10^{-4} \text{ mol}$$

Soit $5,18 \cdot 10^{-4}$ mol à 99,5% de pureté.

La quantité de matière correspondante de bicarbonate de sodium nécessaire est de $3 \cdot 5,18 \cdot 10^{-4}$, soit $1,55 \cdot 10^{-3}$ mol. Dans le même temps la quantité de CO₂ produit est également de $1,55 \cdot 10^{-3}$ mol.

$$n_{\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7} = \frac{n_{\text{NaHCO}_3}}{3} = \frac{n_{\text{CO}_2}}{3}$$

À une température de 20°C et une pression de 1atm, le volume de CO₂ produit est de :

$$V_{\text{CO}_2} = \frac{nRT}{P} = \frac{1,55 \cdot 10^{-3} \cdot 8,314 \cdot 293,15}{1,01325 \cdot 10^5} = 37,37 \text{ mL}$$

Ce calcul a été fait pour estimer un volume de CO₂ suffisant à récupérer. La masse nécessaire à peser de NaHCO₃ pour obtenir ce volume a été calculée.

$n_{\text{NaHCO}_3} = 1,55 \cdot 10^{-3}$ mol correspond à la quantité de matière de bicarbonate de sodium réelle qui doit être présente. Il est donc nécessaire d'ajouter $1,56 \cdot 10^{-3}$ mol, à 99,7% de pureté.

$$m_{\text{NaHCO}_3} = n \cdot M = 1,56 \cdot 10^{-3} \cdot 84,0007 = 130,90 \text{ mg}$$

Le volume de CO_2 a été recalculé, dans les conditions de l'expérience, avant le lancement du test. Les données concernant les réactifs sont répertoriées dans le Tableau 7.

$$V_{\text{CO}_2} = \frac{nRT}{P} = \frac{1,543 \cdot 10^{-3} \cdot 8,314 \cdot 295,15}{100000} = 37,87 \text{ mL}$$

Tableau 7 : Masses pesées de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ et de NaHCO_3 pour réaliser 1L de solution.

	Montages 1 et 2	Montages 3 et 4	Montages 5 et 6
Masse pesée de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	0,8006g	0,8006g	0,8006g
Masse réelle de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	0,7966g	0,7966g	0,7966g
Quantité de matière de $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$ dans le montage	0,518mmol	0,518mmol	0,518mmol
Masse pesée de NaHCO_3	1,0401g	1,0403g	1,0404g
Masse réelle de NaHCO_3	1,0369g	1,0372g	1,0373g
Quantité de matière de NaHCO_3 dans le montage	1,543mmol	1,543mmol	1,543mmol
Volume de CO_2 attendu pour 22°C et 1000hPa	37,87mL		

Une fois le volume de CO_2 produit par la réaction connu, les essais ont été réalisés. Cependant, cette méthodologie pour mesurer le volume gazeux dégagé n'a pas été pratique à mettre en place. La tubulure est peu flexible limitant ainsi les configurations d'installation. Les manipulations entraînent des imprécisions. Après l'ajout du second réactif, du gaz peut s'échapper avant d'être comptabilisé. Il en résulte donc un manque de confiance dans les résultats. Une deuxième série de tests a donc été réalisée à l'aide de seringues.

IV.3.2.2.2. Test d'effervescence n°2

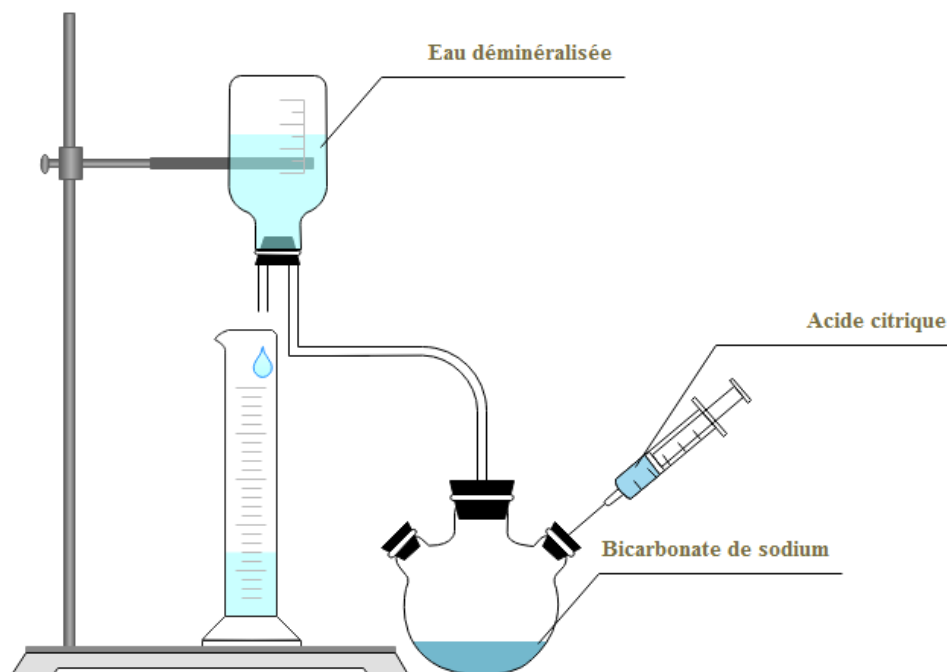


Figure 28 : Schéma du deuxième test d'effervescence.

Pour tester les montages, les volumes des réactifs ont été modifiés pour permettre une utilisation pratique de la seringue (cf. Figure 28). Des volumes de 10mL ont été utilisés, avec une concentration plus importante en réactif pour augmenter le phénomène de dégagement gazeux. Le volume recherché de CO_2 dégagé a été multiplié par trois environ. Ce volume final dégagé a permis notamment d'éviter la trop forte influence des erreurs expérimentales commises. Un écart de 1mL sur un volume total à récupérer de 40mL (2,5%) entraîne une erreur plus importante qu'un écart de 1mL sur un volume de 120mL (0,8%). De plus, le volume à récupérer est adapté à la contenance des éprouvettes de récupération. Pour la préparation de 1L de solution, les masses pesées ont été de $m_{\text{NaHCO}_3}=42,3107\text{g}$ et de $m_{\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7}=32,1608\text{g}$. Les tests se sont déroulés sur plusieurs jours. Les conditions expérimentales de pression et de température ont été prises en considération avant le lancement de chaque test. Par exemple, pour la première journée de test, les conditions de l'expérience étaient de 24°C et de $1008,70\text{hPa}$. Le réactif limitant est NaHCO_3 . La masse pesée est $42,3107\text{g}$, donc la masse réelle est de $42,1838\text{g}$ dans 1L. La quantité de matière correspondante est $0,502\text{mol}$, soit $5,02 \cdot 10^{-3}\text{mol}$ pour 10mL de solution présente dans le montage. Le volume de CO_2 produit est donc :

$$V_{\text{CO}_2} = \frac{nRT}{P} = \frac{5,02 \cdot 10^{-3} \cdot 8,314 \cdot 297,15}{100870} = 123\text{mL}$$

Le matériel utilisé pour ce test a été des bouteilles à trois cols (MF45/250) pour insérer de manière hermétique le second réactif dans la bouteille grâce à une seringue via un septum (SEP45) (cf. Figure 6 et Figure 7). Cependant, la facilité à mettre en place ces montages fait défaut et le besoin de matériel spécifique est nécessaire (c'est-à-dire des bouteilles avec septum). De plus, l'injection de l'acide citrique peut entraîner une modification de la pression à l'intérieur du montage, même si elle est réalisée avec minutie. Cette manipulation peut donc entraîner un biais au niveau du résultat final obtenu. Les tests d'effervescence avec $C_6H_8O_7$ et $NaHCO_3$ ne sont pas convaincants à cause de l'imprécision obtenue lors des mesures et de la difficulté à mettre en place les tests. Un autre test a donc été envisagé pour évaluer la fiabilité des montages.

IV.3.2.2.3. *Test d'effervescence n°3*

L'approche du troisième test est différente. Des pastilles effervescentes commerciales (Alka-Seltzer™) achetées en pharmacie ont été utilisées. La composition des traitements pharmaceutiques vendus en pharmacie sont normalement fabriqués avec haute précision. La quantité de CO_2 a donc été recherchée de manière expérimentale. Pour la vérification du volume de CO_2 donné par chaque pastille, l'expérience de l'éprouvette renversée a été utilisée (cf. Figure 29). Afin de connaître la quantité de CO_2 qu'une pastille est capable de produire, plusieurs tests ont été menés pour évaluer le volume de CO_2 dégagé. Une éprouvette graduée de 1L est remplie entièrement d'eau puis elle est renversée dans un bac rempli d'eau. Cette éprouvette graduée est connectée, via une tubulure étanche, à un erlenmeyer préalablement lavé et séché contenant exactement le volume d'eau déminéralisée désiré. Trois volumes d'eau ont été utilisés pour connaître la quantité de CO_2 dégagé (300, 100 et 50mL). Plusieurs volumes d'eau ont été testés pour connaître lequel possède la plus faible marge d'erreur sur une série de répétitions de mesures. La méthodologie de ce test reste la même, seul le volume d'eau déminéralisée dans l'erlenmeyer change. Ce dernier est composé d'un col permettant la liaison avec l'éprouvette graduée. Une fois le système en place, une pastille d'Alka Seltzer™ est introduite dans l'erlenmeyer et il est fermé hermétiquement. L'erlenmeyer contient un barreau aimanté et il est placé sur un agitateur magnétique pour faciliter le dégagement gazeux. Un mélange délicat a été appliqué. L'expérience est rapide à mettre en place et à réaliser. Peu de ressources sont nécessaires, et les pastilles sont facilement transportables et manipulables ce qui est intéressant dans le cadre de tests de vérification avant le lancement d'une expérience de mesure sur le terrain. Une attention particulière doit être portée sur les conditions de température et de pression.

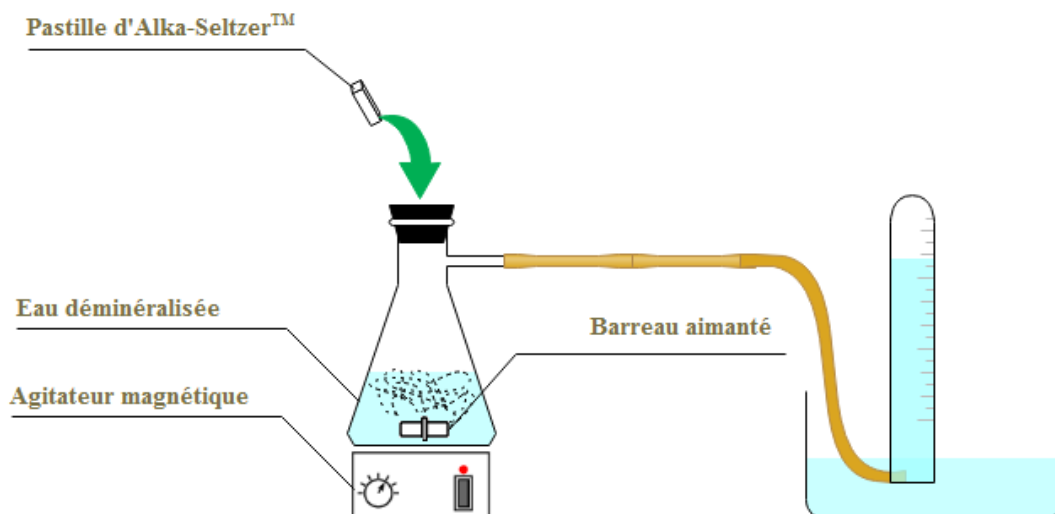


Figure 29 : Schéma du troisième test d'effervescence.

IV.3.3. Conception des montages BMP v.2

La seconde version du montage BMP a été conçue dans le but de minimiser les défauts dus à une conception en laboratoire (perte d'étanchéité au gaz, ergonomie au niveau de la tubulure utilisée, transportabilité, etc.). Plusieurs matériaux ont été testés pour valider les différents prototypes, et retenir le plus performant par rapport à l'étanchéité aux gaz qui reste le principal problème rencontré dans ce type de montage non usiné. Les connexions des montages BMP v.2 ont été réalisées avec des embouts en nylon (cf. Figure 30) et de la tubulure en PVC. Les bouteilles en verre de la version 1 ont été remplacées par des bouteilles en polypropylène (PP) rigides à larges goulots.



Figure 30 : Embouts en nylon utilisés pour les montages conçus en laboratoire.

Les bouchons des bouteilles ont été perforés à l'aide de forets de perceuse préalablement chauffés pour que les orifices soient sans rugosité. Les embouts ont ensuite été visés en force (cf. Figure 31). Ces précautions ont été prises afin d'éviter au maximum le risque de fuites.

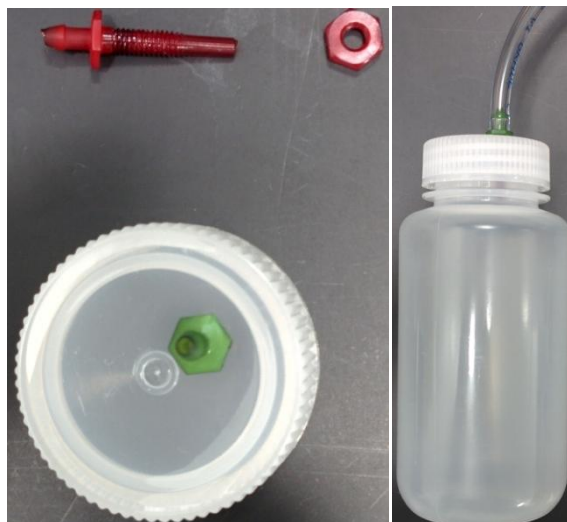


Figure 31 : Embout fixé sur une bouteille.

IV.3.4. Tests de fiabilité sur les montages BMP v.2

La méthodologie appliquée précédemment au montage BMP v.1 est réalisée sur les prototypes des montages BMP v.2 conçus au laboratoire (pertes hydrostatiques et récupération gazeuse). De plus, un dernier test est appliqué au montage pour vérifier la présence d'imperfections au niveau des connexions et donc de possibles fuites de gaz. Des pastilles Alka Seltzer™ sont utilisées pour le dégagement gazeux. Les parties du montage et les connexions à tester sont immergées dans un bain d'eau. Un dégagement gazeux s'il n'y a pas de fuites fait augmenter la pression dans le montage. Dans le cas contraire, une fuite est repérée grâce à l'apparition de bulles. Si la fuite se trouve au niveau d'une connexion entre l'embout et la tubulure, la solution la plus simple est l'utilisation d'une agrafe en plastique pour resserrer la tubulure au plus près de l'embout (cf. Figure 32). Si cela n'est pas suffisant la partie du montage est rejetée et elle est remplacée par une autre passant le test de vérification.



Figure 32 : Agrafe utilisée en cas de fuite entre la tubulure et l'embout.

Une fois les tests de fiabilité complétés, un essai sur les montages du BMP v.2 a été réalisé avec des échantillons de boue de fosse septique et dans les conditions réelles de l'expérience. La Figure 33 montre les prototypes retenus en fonctionnement lors d'un essai.

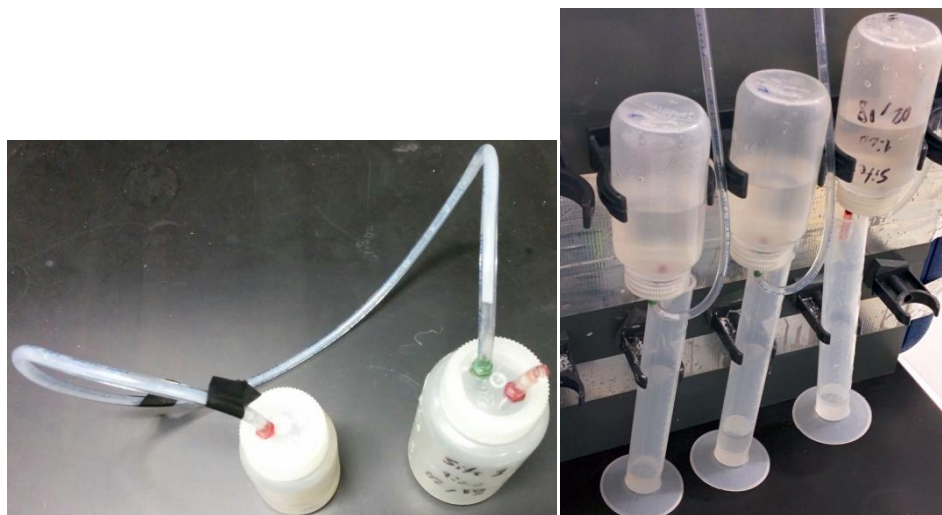


Figure 33 : Montage BMP v.2.

Un volume de 50mL de boue de fosse septique a été placé dans les bouteilles et incubé dans un bain d'eau chauffée à 35°C, à l'aide d'un élément chauffant de la marque ANOVA™ (cf. Figure 34). La bouteille renversée est remplie de NaOH à 3% qui absorbe le CO₂ et déverse le volume équivalent au CH₄ produit dans l'éprouvette graduée.

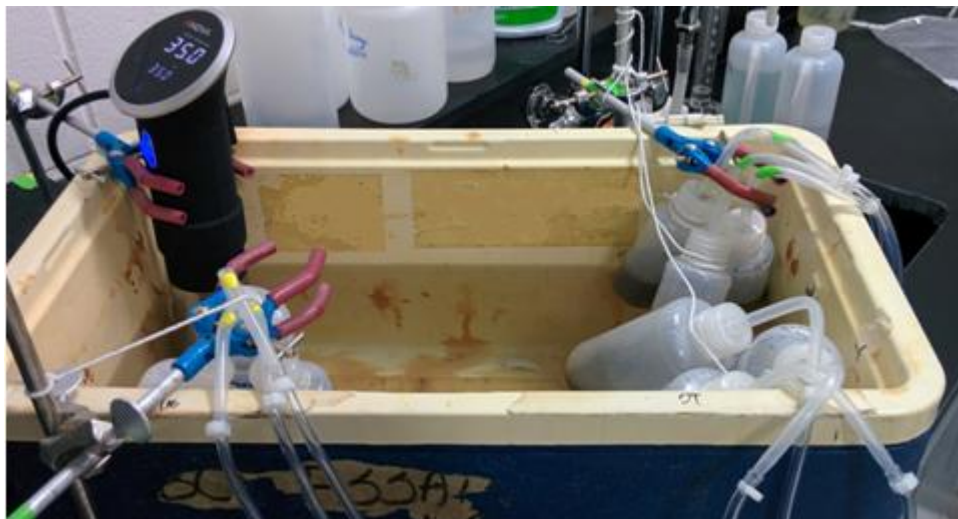


Figure 34 : Glacière contenant de l'eau à 35°C.

IV.3.5. Conception des montages Seringue

Une seconde option a été envisagée pour la mesure de la digestion anaérobie. Elle consiste en une méthode d'appoint pour des mesures de l'activité méthanogène dans des contextes difficiles avec des ressources limitées, tels que des essais à réaliser directement sur le terrain sans accès à un laboratoire. À partir des informations provenant d'études présentes dans la littérature scientifique (Guwy 2004 ; Müller, Frommert, and Jörg 2004 ; Rozzi and Remigi 2004), l'idée a été de mettre en place une méthode de mesure avec le minimum de matériel. Plusieurs prototypes et essais ont été nécessaires afin d'obtenir le montage adéquat pour la mesure de l'activité méthanogène.

IV.3.5.1. Premier prototype de montage Seringue

Le premier prototype réalisé est présenté à la Figure 35. Un flacon laveur a été utilisé. Il a été connecté à une seringue de 20mL grâce à une tubulure en PVC. Le défaut majeur de ce modèle est la longueur de la tubulure utilisée. À cause de cette caractéristique, le gaz provenant de la digestion anaérobie n'a pas exercé assez de pression pour déplacer le piston de la seringue. De plus, la contenance de la seringue semble être insuffisante si les essais de récupération de biogaz se font sur une longue période de temps.



Figure 35 : Premier prototype pour le montage Seringue.

IV.3.5.2. Deuxième prototype pour le montage Seringue

Le volume de la seringue a été augmenté et la tubulure a été raccourcie (cf. Figure 36), mais cela n'est pas suffisant pour déplacer le piston de la seringue. Le défaut remarqué dans ce modèle provient de la jonction entre la seringue et le tube de PVC. L'étanchéité ne semble pas être assurée avec ce type de connexion. De plus, la tubulure est trop courte pour pouvoir placer, de manière stable, le montage dans un bain chauffant ou dans une étuve. La masse de la seringue en équilibre au bout du flacon empêche de positionner la bouteille sur son culot. L'utilisation d'un portoir a été nécessaire pour l'essai de digestion anaérobie avec ce montage.



Figure 36 : Deuxième prototype pour le montage Seringue.

IV.3.5.3. Troisième prototype du montage Seringue

La tubulure a été ajustée afin d'être à la longueur nécessaire pour placer le montage dans un bain chauffant et le stabiliser correctement. Le volume du contenant accueillant l'échantillon a été diminué afin de limiter le volume d'espace de tête laissé libre et faciliter ainsi le déplacement du piston. Le volume des contenants utilisés peut être ajusté selon les besoins ou les contraintes de la situation. La différence majeure par rapport aux prototypes précédents est l'ajout d'une deuxième seringue (cf. Figure 37). Lors du montage précédent, le volume de gaz produit par les échantillons de boue de fosse septique utilisés a été trop important pour une seule seringue. La jonction des deux seringues a été faite à l'aide d'un connecteur à trois têtes. Pour renforcer les connexions, des agrafes en plastique ont été utilisées. Cela a permis, entre autre, d'éviter tout mouvement de la tubulure autour de la connexion et ainsi éviter les fuites à ce niveau.



Figure 37 : Troisième prototype pour le montage Seringue.

IV.3.5.4. Quatrième prototype du montage Seringue

Les connecteurs en T ont été remplacés par des connecteurs en Y pour deux raisons. La première a été d'ordre économique. Les connecteurs en Y sont moins chers que les connecteurs en T. La seconde raison est d'ordre ergonomique. Pour la réalisation des expériences, plusieurs prototypes ont été utilisés parfois dans un espace restreint. L'économie au niveau de la place utilisée par chacun des montages est donc un point intéressant.

Un aspect qui a été pris en compte lors de la fabrication de ce prototype est la récupération du CH_4 émis par l'échantillon et non l'ensemble du biogaz (majoritairement $\text{CO}_2 + \text{CH}_4$). Pour cela des pastilles de NaOH ont été insérées dans les deux seringues pour absorber le CO_2 , dans le but de quantifier le volume de CH_4 libéré par l'échantillon de boue de fosse septique. Le piston des seringues a été lubrifié avec de l'huile de silicone pour faciliter leur déplacement. Cependant, de par leur propriété hygroscopique, les pastilles de NaOH ont absorbé l'humidité du biogaz produit par l'échantillon de boue de fosse septique. Ce phénomène a eu pour effet de liquéfier les pastilles et de créer un mélange avec l'huile de silicone. Ce mélange de consistance visqueuse a entraîné le colmatage des seringues. Ce défaut a entraîné un gonflement de la bouteille accueillant l'échantillon.



Figure 38 : Quatrième prototype pour le montage Seringue.

IV.3.5.5. Le montage Seringue utilisé

Le cinquième et dernier prototype est constitué d'une bouteille de polypropylène (PP) rigide, accueillant l'échantillon, connectée à deux seringues de marque BD™ (avec des embouts luer-lock). Les seringues sont constituées d'un corps en polypropylène (PP). Le joint du piston est en élastomère thermoplastique de synthèse sans latex (TPE) et peut donc être lubrifié avec de l'huile de silicone. Cette dernière est importante car elle permet le déplacement du piston malgré une faible pression engendrée par l'activité méthanogène. La tubulure utilisée est identique et les connexions sont réalisées comme précédemment pour le montage BMP v.2. L'utilisation d'un connecteur en Y a été nécessaire pour l'utilisation de deux seringues (cf. Figure 39). L'une d'elles est utilisée pour accueillir des pastilles de NaOH alors que la seconde est lubrifiée avec de l'huile de silicone pour récolter le méthane. Cette précaution a été prise afin d'éviter tout phénomène de réaction entre

l'huile de silicone, le NaOH et l'eau produite par la digestion anaérobie. De plus, le volume des échantillons a été choisi en fonction des capacités maximales de la bouteille et de la seringue. Malgré la variabilité de la qualité de l'échantillon de boue de fosse septique utilisé, un volume de 50mL semble être le volume ayant le rapport dégagement gazeux/capacité du montage optimal pour ce type de montage.



Figure 39 : Seringues reliées grâce à un connecteur en Y.

Le méthane produit déplace ainsi la seconde seringue indiquant le volume équivalent. Ce montage (Figure 40) a également fait l'objet de tests pour vérifier l'étanchéité du matériel utilisé et des connexions entre les parties du montage. Les tests réalisés sur les montages BMP (v.1 et v.2) concernant les pertes hydrostatiques n'ont pas été utilisés pour ce montage. Seule la vérification de fuites engendrées par la pression a été faite. Des agrafes en plastique ont été utilisées si nécessaire pour empêcher les fuites.



Figure 40 : Montage Seringue.

Comme pour le montage BMP v.2, la bouteille accueillant les 50mL d'échantillon de boue de fosse septique est incubée dans le bain chauffé à 35°C (cf. Figure 40).

IV.3.6. Coût des montages conçus

Tableau 8 : Coût du matériel utilisé pour la conception des montages expérimentaux.

Item utilisé et caractéristiques	Quantité commandée	Prix sans taxes (\$CAD)	Prix unitaire avec taxes (\$CAD)
Éprouvette de 100mL en polypropylène (graduation : 1mL)	20	55,40	3,18
Tube en PVC diamètre interne : 1/8 pouces diamètre externe : 1/4 pouces épaisseur : 1/16 pouces longueur : 50 pieds	1	39,50	45,41
Agrafes en plastique Gamme de diamètre : 0,246 à 0,290 pouces	100	50,36	0,58
Seringue non stérile avec embout luer-lock de 60mL (graduation : 1mL)	125	197,20	1,81
Connecteur en Y Diamètre : 1/8 pouces	20	19,57	1,12
Bouteilles VWR® en polypropylène à large goulot 125mL	72	33,60	0,54
Bouteilles VWR® en polypropylène à large goulot 250mL	72	97,31	1,55
Embouts en nylon Diamètre interne : 3/32 pouces	12	38,91	3,73

La plupart du matériel de laboratoire disponible est commandé via des plateformes nord-américaines utilisant des unités impériales. Chacune des unités utilisées dans le Tableau 8 peuvent être retranscrites en unités du système métrique international, selon les relations suivantes données dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Conversion des unités en SI.

Distance		
Système impérial	1 pouce	1 pied
Système international	2,54cm	30,48cm

Le coût total pour la fabrication d'un montage BMP v.2 et d'un montage Seringue est donné dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Coût engendré pour la fabrication des montages.

Montage	Matériel nécessaire	Prix (en \$CAD)	Total (en \$CAD)
BMP v.2	1 éprouvette	3,18	19,44
	1 bouteille de 125mL	0,54	
	1 bouteille de 250mL	1,55	
	~50cm de tube PVC	1,82	
	3 embouts en nylon	11,19	
	2 agrafes en plastique	1,16	
Seringue	1 bouteille de 125mL	0,54	11,41
	2 seringues	3,62	
	~50cm de tube PVC	1,82	
	1 connecteur en Y	1,12	
	1 embout en nylon	3,73	
	1 agrafe en plastique	0,58	

Les prix indiqués dans le Tableau 10 correspondent au matériel utilisé dans cette étude. La contenance des bouteilles peut changer selon les besoins. De plus, les agrafes en plastique ont été employées uniquement lorsque cela était nécessaire, c'est-à-dire lorsque la présence de fuites réparables au niveau des connexions ont été remarquées. Le tarif énoncé dans le Tableau 10 est donc à titre indicatif et peut être amené à changer. Les réactifs chimiques utilisés dans les expériences n'ont pas été pris en compte dans la tarification finale.

Une fois les montages expérimentaux conçus et leur fiabilité testée, la comparaison des résultats de l'activité méthanogène a dû être faite avec une méthode de référence : le système Oxitop®.

IV.3.1. Le système Oxitop®

Les deux méthodes volumétriques présentées précédemment ont été comparées avec un système normalisé pour la mesure de l'activité méthanogène. Le système Oxitop® (cf. Figure 59) a servi de référence pour la validation des montages expérimentaux conçus en laboratoire. C'est une méthode manométrique qui mesure la pression générée par le gaz produit à l'intérieur de la bouteille. Les têtes de mesure sont placées au-dessus de chacune des bouteilles. Chaque tête de mesure enregistre la pression engendrée dans la bouteille à des intervalles de temps réguliers (toutes les 40 minutes pour une durée expérimentale totale de 10 jours). La dégradation anaérobie produit principalement du méthane (CH₄) et du dioxyde de carbone (CO₂). Les autres gaz produits sont considérés comme négligeables. Pour ne mesurer que le méthane, des pastilles de NaOH (cf. Figure 8) sont placées dans la nacelle présente sous chaque tête de mesure (cf. Figure 6). La pression ainsi mesurée correspond au méthane produit à l'intérieur de la bouteille. L'expérience a été réalisée à une température constante de 35°C, la pression engendrée par le méthane produit peut donc être retranscrite en volume grâce à la loi de Boyle-Mariotte :

$$P_i \cdot V_i = P_f \cdot V_f$$

Le volume d'espace de tête laissé libre après ajout de l'échantillon de boue de fosse septique est de 257mL exactement (V_i), pour chaque bouteille. Au début de l'expérience, la pression initiale dans l'enceinte de la bouteille équivaut à la pression atmosphérique (P_i), et connaissant la pression finale correspondant à la pression atmosphérique plus la pression créée par la dégradation anaérobie ($P_f = P_i + \Delta P$) donnée par le système Oxitop®, le volume de méthane peut être calculé comme étant le volume initial de l'espace de tête plus le volume de méthane créé ($V_f = V_i + \Delta V$). Des détails supplémentaires concernant la mesure de l'activité méthanogène sont donnés en annexe 6. Les volumes de méthane donnés par le témoin du système Oxitop® sont comparés aux volumes donnés par les montages expérimentaux pour vérifier leur robustesse. L'activité méthanogène est une résultante de la dégradation en condition anaérobie. Le système Oxitop® a permis également de comparer les volumes de méthane produit pour chaque bio-additif avec le témoin, pour évaluer leurs effets.

IV.4. L'analyse statistique des expériences

IV.4.1. L'efficacité des bio-additifs

Lors de ces expériences, plusieurs paramètres ont été analysés : les solides totaux, les solides volatils, la demande chimique en oxygène, les coliformes fécaux et la production de méthane. Ils ont fait l'objet d'une étude statistique afin de connaître l'effet des produits de traitement appliqués.

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel Minitab. Plusieurs vérifications ont été également faites à l'aide d'autres logiciels ou matériel disponibles au public (R, BiostaTGV) afin de valider la méthode employée et les résultats obtenus. L'analyse statistique réalisée est une analyse de la variance (ANOVA) qui permet de comparer plusieurs moyennes entre elles et de démontrer les différences. Comme pour toutes les analyses statistiques, les hypothèses formulées pour chacun des paramètres analysés, sont les suivantes :

Hypothèse nulle H_0 : toutes les moyennes pour un paramètre mesuré sont égales.

Hypothèse alternative H_1 : au moins une moyenne pour un paramètre mesuré est différente.

Dans le cas où l'hypothèse alternative est acceptée, c'est-à-dire qu'au moins une moyenne est différente, la comparaison peut être faite plus en détails. L'organigramme (Figure 41) ci-dessous explique la démarche suivie pour l'étude statistique.

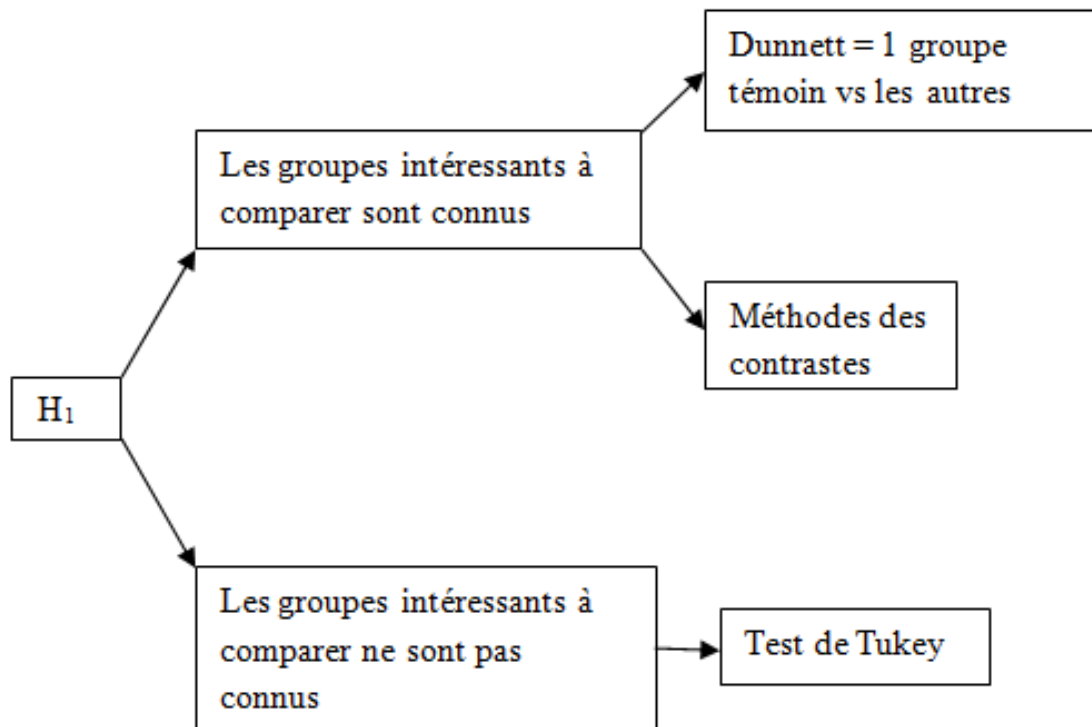


Figure 41 : Organigramme des tests post-hoc disponibles.

Le but de l'étude est de déterminer l'influence d'au moins un bio-additif dans l'amélioration de la dégradation des boues de fosse septique. Dans ce sens, une différence entre la dégradation naturelle simulée dans les échantillons de boue de fosse septique et la dégradation sous l'effet des produits de traitement a été recherchée. Dans ce cas, un test de Dunnett a été utilisé pour faire la comparaison entre le témoin (*i.e.* la dégradation naturelle) et les bio-additifs. Les combinaisons analysées sont donc : « Témoin-Greenpig » ; « Témoin-Sealand » ; « Témoin-Septonic ». Dans le cas où plusieurs bio-additifs s'avèrent efficaces, la performance peut être recherchée grâce à un test de Tukey qui met en évidence les combinaisons entre les différents traitements appliqués (*i.e.* « Greenpig-Sealand » ; « Greenpig-Septonic » ; « Sealand-Septonic »).

Pour normaliser les données expérimentales, les paramètres ont été analysés en termes de réduction. Les solides totaux, les solides volatils et la demande chimique en oxygène ont été exprimés en pourcentage de réduction et les coliformes fécaux ont été exprimés en réduction logarithmique. La mesure de l'activité méthanogène a été également évaluée avec et sans l'ajout de bio-additifs, grâce à la méthode Oxitop®. Une différence statistiquement significative entre les quatre traitements (témoin et les trois bio-additifs) a été recherchée, grâce à l'analyse de la variance. Par la suite, un test post-hoc a été réalisé afin de connaître quelles sont les différences entre chacun des

traitements : le test de Dunnett. Toutes ces analyses ont été réalisées avec un niveau de confiance de 95%.

IV.4.2. La fiabilité des montages conçus

Pour évaluer la robustesse des montages expérimentaux conçus, les différences significatives entre les différents montages (Oxitop®, BMP v.2 et Seringue) ont été recherchées, grâce à une analyse de la variance. Le témoin du montage Oxitop® a servi de référence pour le volume de méthane produit. L'analyse statistique s'est concentrée sur la validation des montages expérimentaux. La comparaison a été faite entre le système Oxitop® et les deux montages conçus. Pour réaliser la comparaison entre le montage de référence et les deux montages expérimentaux, le test de Dunnett a été utilisé.

V. RESULTATS ET DISCUSSION

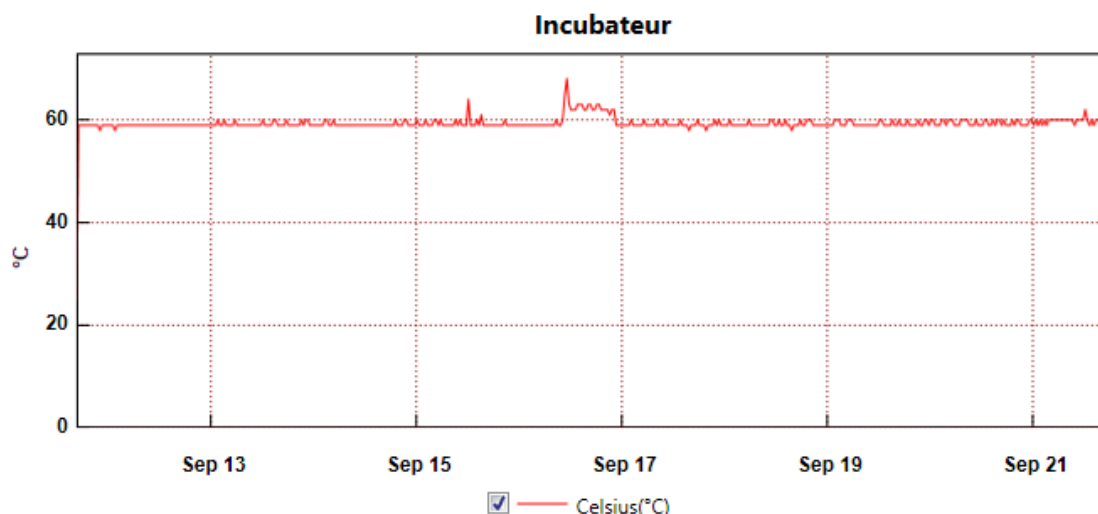
V.1. Analyse des résultats expérimentaux obtenus

Avant le lancement du premier essai pour l'évaluation du rôle des bio-additifs dans la dégradation des boues de fosse septique, des tests préliminaires ont été réalisés afin de simuler les problèmes ou difficultés susceptibles d'être rencontrés au cours des expériences. Le premier essai est présenté individuellement. Par la suite, les résultats pour les cinq autres essais ont été classés selon les paramètres analysés. Les détails des calculs réalisés, ainsi que les résultats d'expérience obtenus se trouvent en annexes (cf. annexes 9 et 11). Pour la conception des méthodes analytiques de mesure de l'activité méthanogène, des essais ont été réalisés avec le matériel disponible. Des tests de fiabilité ont permis d'éliminer les montages présentant des défauts ainsi que de valider la robustesse des prototypes conçus.

V.2. Évaluation de l'effet de trois bio-additifs

V.2.1. Essai n°1

La présence d'incubateur pour le premier test a fait défaut, ce qui a amené à utiliser un four réglé à la température de 35°C. Cependant, toutes les bouteilles contenant l'échantillon de boue de fosse septique ont été placées sur la partie chauffante du four. Cette observation a été vérifiée grâce à l'utilisation d'un enregistreur de température (cf. Figure 18) qui montre l'élévation de la température jusqu'à environ 60°C (cf. Figure 42). Cette défaillance a permis de mettre en lumière le fait qu'une méthanogénèse thermophile ne pouvait avoir lieu dans le cadre de cette expérience, du moins sur une période de dix jours. D'après les mesures de méthane faites à 60°C, la justification de l'utilisation d'une température pour la biomasse méthanogène mésophile semble pertinente, surtout concernant le matériel utile pour maintenir de telles conditions de température. En effet, les échantillons de boue de fosse septique utilisés pour les montages expérimentaux sont incubés dans une glacière et le fait de maintenir un niveau d'eau constant à une température aussi élevée aurait été délicat. De plus, pour une période d'une dizaine de jours, la production de méthane semble seulement en être qu'à ces débuts (cf. Figure 16). Malgré les résultats obtenus, cet essai n'a pas été pris en considération dans la suite de l'étude, ni dans les conclusions statistiques.



From: vendredi 11 septembre 2015 16:34:25 - To: lundi 21 septembre 2015 18:34:25

Figure 42 : Évolution de la température lors du premier essai.

V.2.2. Analyse d'exploration des données

Certaines des données expérimentales obtenues n'ont pas été prises en compte du fait de leur caractère aberrant. Ces mesures n'ont pas été utilisées dans les analyses statistiques, pour ne pas influencer à tort les résultats obtenus. Cette section s'intéresse à la justification de l'élimination de ces données aberrantes. L'annexe 9 répertorie toutes les valeurs expérimentales obtenues lors des essais réalisés pour les paramètres mesurés. Les valeurs en gras représentent les valeurs rejetées.

Pour l'essai n°2, un réplica des solides totaux et des solides volatils pour le traitement Septonic au temps $t=0$ jour n'a pas été pris en compte (cf. Tableau 40 et Tableau 41). Avant le lancement de l'expérience, la quantité de solides à l'intérieur des échantillons de boue de fosse septique doit être la même car l'action des bio-additifs ajoutés n'a pas débutée. De plus, les solides contenus dans les échantillons au début de l'essai doivent être également supérieurs à ceux de $t=5$ jours et $t=10$ jours, car les phénomènes de dégradation, dans les conditions de l'expérience, n'ont pas encore été évalués. Cette mesure est due à une erreur de manipulation concernant la sortie de la coupelle du four. Une partie de l'échantillon a été perdu à ce moment.

Pour l'essai n°3, un réplica des solides totaux pour Sealand au temps $t=10$ jours n'a pas été pris en compte (cf. Tableau 44). À ce temps d'incubation, la valeur semble aberrante du fait qu'elle soit environ cinq fois inférieure à la tendance observée pour ce paramètre. Mais le plus important est la concentration en solides volatils obtenue pour le même traitement et le même temps d'incubation (c'est-à-dire la même coupelle utilisée) qui est supérieure à celle des solides totaux. Normalement,

pour un même échantillon, la concentration en solides volatils est inférieure à celle des solides totaux car les solides volatils sont une fraction des solides totaux.

Pour l'essai n°4, la concentration en coliformes fécaux au temps $t=10$ jours pour tous les traitements appliqués est nulle (cf. Tableau 51). Malgré une dilution faible employée ici (10^{-1}), aucune colonie ne s'est développée. Cependant, aucune méthode alternative n'a été utilisée à ce moment pour vérifier si les résultats obtenus ont été représentatifs de la réalité. Les mesures pour cet essai ont donc été prises en compte dans l'analyse statistique.

Pour l'essai n°6, un des triplicatas du témoin pour le temps $t=10$ jours a donné des résultats nuls. Cependant, ici, l'analyse Colilert a été réalisée en complément de la méthode de filtration sur membrane pour vérifier la présence de coliformes fécaux. Pour cette expérience 10mL de boue de fosse septique ont été utilisés, chaque traitement est réalisé en duplicata. Deux tests Colilert ont été réalisés pour la robustesse des résultats. La présence de coliformes totaux est représentée par les cupules jaunes et la présence en *Escherichia Coli* par les cupules bleues fluorescentes à l'UV (cf. Figure 43 et Figure 44). Le quantitray du Colilert est composé de 48 grosses cupules et 48 petites cupules. Les détails du protocole utilisé se trouvent en annexe 10.

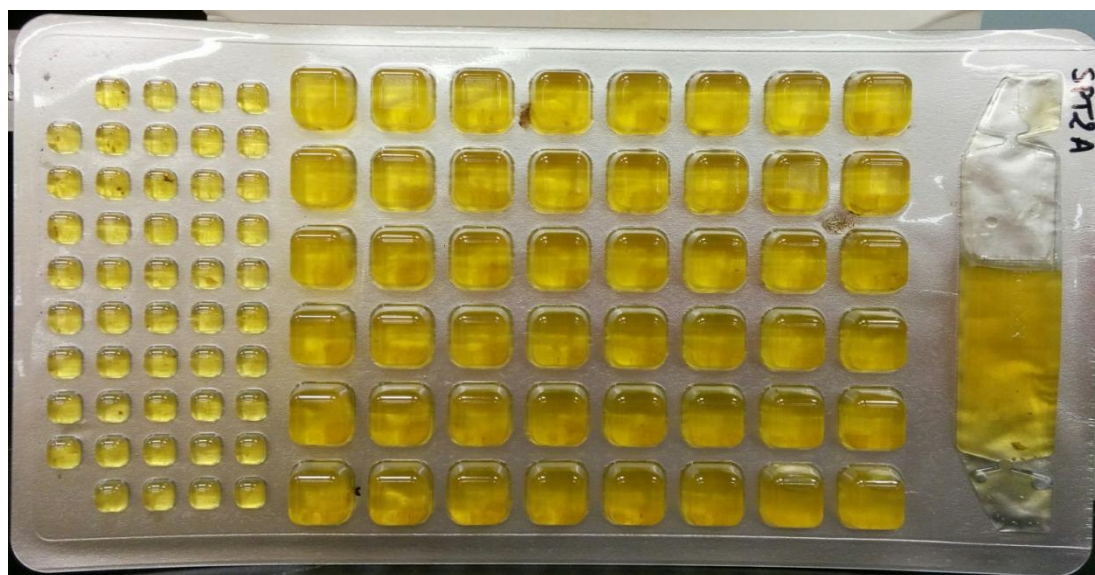


Figure 43 : Résultats Colilert (cupules jaunes).

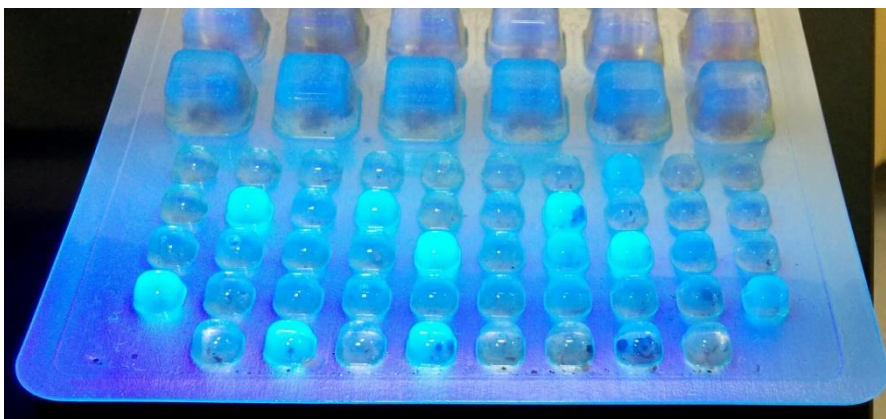


Figure 44 : Résultats Colilert (cupules bleues à l'UV).

L'analyse Colilert (cf. Tableau 11) a permis de mettre en évidence la présence de coliformes fécaux pour le témoin au temps $t=10$ jours. Les valeurs obtenues dans le cadre de la méthode de filtration sur membrane n'ont donc pas été prises en compte.

Tableau 11 : Résultats de l'analyse Colilert (essai 6).

	TEMOIN 1		TEMOIN 2		GREENPIG 1		GREENPIG 2		SEALAND 1		SEALAND 2		SEPTONIC 1		SEPTONIC 2	
Couleur cupules	jaune	bleue	jaune	bleue	jaune	bleue	jaune	bleue	jaune	bleue	jaune	bleue	jaune	bleue	jaune	bleue
Grosses cupules	48	48	48	3	48	37	48	35	48	43	47 ¹	41 ¹	48	48	48	36
Petites cupules	48	48	48	1	48	19	48	11	48	36	48	28	48	48	48	7
Grosses cupules	48	48	48	3	48	33	48	36	48	48	48	43	48	48	48	28
Petites cupules	48	48	48	1	48	13	48	16	48	40	48	39	48	48	48	6

¹ : une cupule n'a pas été remplie.

L'analyse Colilert permet de mettre en évidence la présence ou l'absence de coliformes totaux et E. coli. D'après le protocole présenté en annexe 10, les résultats obtenus au Tableau 11 peuvent être interprétés, selon l'aspect des cupules. Le tableau NPP (nombre le plus probable), fourni avec le matériel du kit Colilert, a permis d'estimer le nombre de coliformes dans les échantillons de boue de fosse septique utilisés (cf. Tableau 12 & Tableau 13). Les résultats sont exprimés en UFC/100mL.

Tableau 12 : Nombre le plus probable en coliformes totaux pour l'essai 6 (analyse Colilert).

TEMOIN 1	TEMOIN 2	GREENPIG 1	GREENPIG 2	SEALAND 1	SEALAND 2	SEPTONIC 1	SEPTONIC 2
10112	10112	10112	10112	10112	6910	10112	10112
10112	10112	10112	10112	10112	10112	10112	10112

Tableau 13 : Nombre le plus probable en E. coli pour l'essai 6 (analyse Colilert).

TEMOIN 1	TEMOIN 2	GREENPIG 1	GREENPIG 2	SEALAND 1	SEALAND 2	SEPTONIC 1	SEPTONIC 2
10112	41	1056	784	2381	1648	10112	738
10112	41	752	935	6893	2577	10112	488

V.2.3. Les solides totaux

La Figure 45 représente le pourcentage de réduction des solides totaux dans le temps sur l'ensemble des cinq échantillons de boue de fosse septique utilisés. Ce graphique regroupe, pour chaque temps d'incubation, la moyenne des données expérimentales pour chaque traitement. Par exemple, le point représentant $t=0$ jour, pour le témoin, est la moyenne des cinq moyennes obtenues pour chacun des cinq essais à $t=0$ jour pour le témoin. Ce graphique représente donc la tendance générale observée pour les résultats obtenus concernant la réduction des solides totaux. L'écart-type permet de renseigner sur la variabilité des résultats obtenus sur l'ensemble des expériences. L'effet d'un bio-additif est considéré comme positif lorsque la réduction d'un paramètre est significativement supérieure à celle de la dégradation naturelle du témoin. La présentation des données concernant les trois autres paramètres a été faite de la même manière.

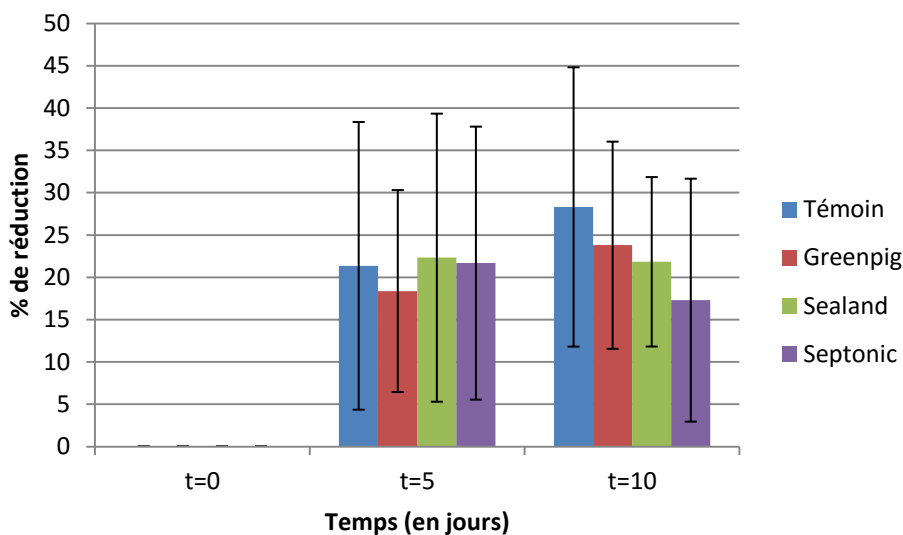


Figure 45 : La réduction des solides totaux avec l'écart-type sur les répétitions.

La Figure 45 représente les écart-types par rapport à la moyenne de chaque traitement et chaque temps d'incubation, pour la mesure des solides totaux. Du fait des caractéristiques propres de chaque boue de fosse septique, les taux de réduction obtenus pour l'abattement en solides ont une variabilité importante. Chaque échantillon de boue de fosse septique récolté possède ces caractéristiques intrinsèques selon la qualité de l'affluent domestique, qui influe directement sur sa composition et la concentration en polluants. Malgré les variations au niveau des taux d'abattement en solides totaux sur les cinq échantillons utilisés, et ce sur la totalité de la durée de l'expérience, les différences entre les traitements ne sont pas significatives. Un bio-additif est considéré comme efficace lorsque le taux de réduction d'un paramètre est significativement supérieur à celui du

témoin, pour le même temps d'incubation. Entre le début et la fin de l'incubation, la réduction des solides totaux dans le temps n'a pas eu d'effet positif, pour les trois bio-additifs par rapport au témoin.

V.2.4. L'analyse de la variance pour les solides totaux

Les résultats présentés en gras dans le Tableau 14 sont significatifs au seuil d'erreur de 5%.

Tableau 14 : Résultats de l'analyse statistique pour les solides totaux.

Solides totaux	p-value	
	Réduction (t0-t5)	Réduction (t0-t10)
ANOVA	0,361	0,001
Test de Dunnett	NR (non renseigné)	Sealand≠Témoin Septonic≠Témoin

L'analyse statistique a permis de mettre en évidence si les différences observées sont réellement significatives au seuil de confiance fixé. Le détail des analyses est présenté en annexe (cf. annexe 11). Dans la première partie de l'expérience, aucune différence significative n'a été remarquée, ce qui signifie que le test de Dunnett n'a pas été réalisé dans ce cas (*i.e.* « NR » du Tableau 14). D'après les observations faites sur les données expérimentales (cf. Figure 45) et les résultats statistiques obtenus (cf. Tableau 14) sur la durée totale de l'expérience, deux des trois bio-additifs utilisés ont montré une différence significative. Cependant, cette différence est due à un taux de réduction des solides totaux moins élevé que celui mesuré dans le témoin.

Pour les échantillons de boue de fosse septique analysés dans les conditions de l'expérience, aucune différence significative et positive de l'effet des bio-additifs sur l'amélioration de la dégradation des solides totaux n'a donc été remarquée.

V.2.5. Les solides volatils

Les solides volatils étant une mesure complémentaire à celle des solides totaux, les tendances de la dégradation et les observations faites précédemment sont relativement similaires (cf. Figure 46). La réduction n'est pas significative. Elle est nettement affectée sur les derniers jours de l'expérience, où la dégradation naturelle du témoin est supérieure à celle de tous les bio-additifs appliqués.

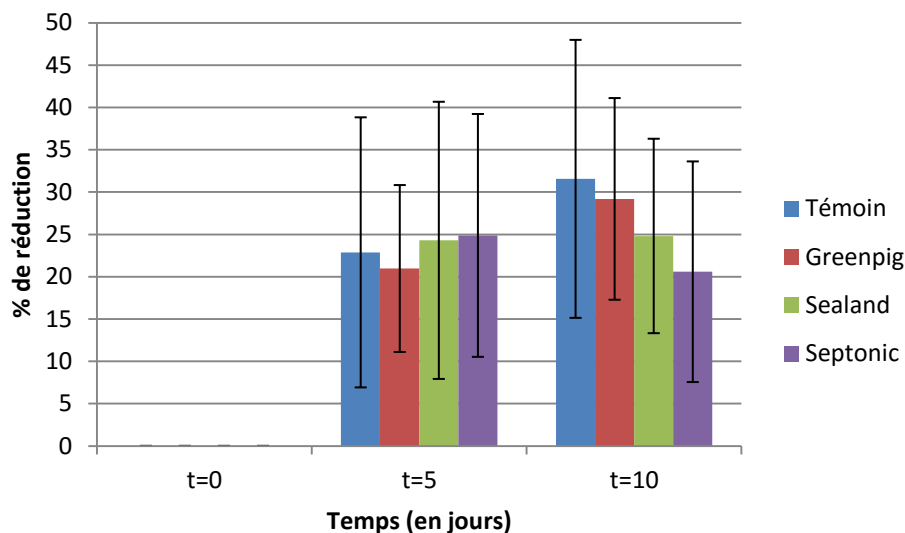


Figure 46 : La réduction des solides volatils avec l'écart-type sur les répétitions.

Les écart-types obtenus à la Figure 46 ne montrent pas d'amélioration nette de la dégradation des solides volatils pour l'ensemble des cinq essais réalisés.

V.2.6. L'analyse de la variance pour les solides volatils

L'analyse statistique a permis de mettre en évidence les différences entre les traitements appliqués. Les résultats présentés en gras dans le Tableau 15 sont significatifs au seuil d'erreur de 5%.

Tableau 15 : Résultats de l'analyse statistique pour les solides volatils.

Solides volatils	p-value	
	Réduction (t0-t5)	Réduction (t0-t10)
ANOVA	0,369	0,001
Test de Dunnett	NR	Sealand≠Témoin Septonic≠Témoin

Les conclusions concernant les solides volatils sont similaires à celles qui ont été faites pour les solides totaux. Les seules différences significatives concernant les traitements appliqués sont dues à une efficacité moindre de la réduction des solides pour les échantillons de boue de fosse septique, dans les conditions de l'expérience.

V.2.7. La demande chimique en oxygène

La Figure 47 représente la réduction de la demande chimique en oxygène en fonction du temps d'incubation pour les cinq échantillons de boue de fosse septique analysés.

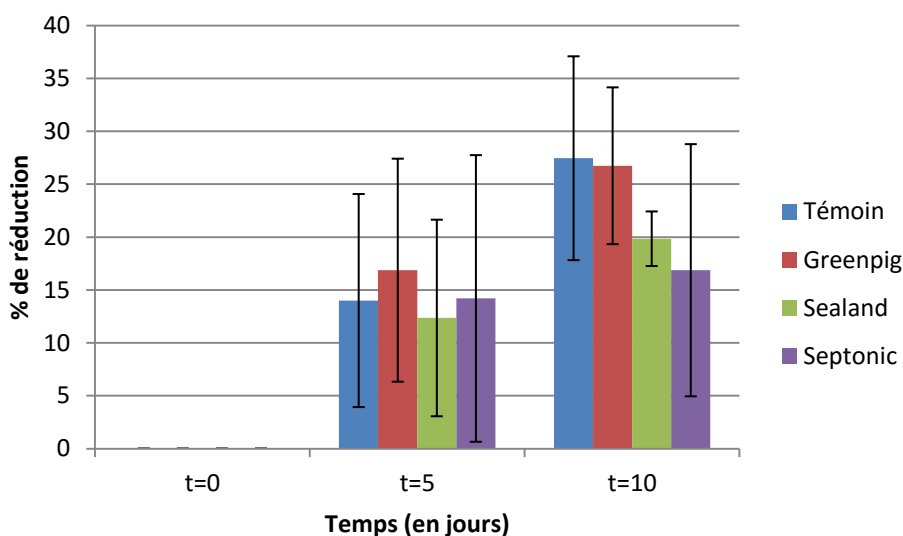


Figure 47 : La réduction de la DCO avec l'écart-type sur les répétitions.

Sur l'ensemble des essais, l'abattement de la matière organique est plus inégal. Selon les données expérimentales, les bio-additifs appliqués n'ont pas eu d'effet positif sur l'abattement de la matière organique, hormis Greenpig au temps t=5 jours. D'après les données expérimentales du graphique, la réduction de la DCO de ce dernier est supérieure à celle du témoin. Cependant, au vu des écart-types obtenus, c'est-à-dire en prenant en considération la variabilité des résultats, la différence n'est pas significative. Sur la durée de l'expérience, l'abattement en matière organique sous l'effet des bio-additifs est équivalent voire inférieur à la dégradation naturelle, notamment pour les bio-additifs suivants : Sealand et Septonic (cf. Figure 47).

V.2.8. L'analyse de la variance pour la DCO

Les résultats présentés en gras dans le Tableau 16 sont significatifs au seuil d'erreur de 5%.

Tableau 16 : Résultats de l'analyse statistique pour la DCO.

DCO	p-value	
	Réduction (t0-t5)	Réduction (t0-t10)
ANOVA	0,031	0,000
Test de Dunnett	Aucune différence	Sealand≠Témoin Septonic≠Témoin

L'analyse statistique a permis de mettre en évidence les différences significatives entre les traitements appliqués sur l'ensemble des échantillons utilisés. Selon les résultats obtenus, la première remarque est que, pour les deux temps d'incubation appliqués, les différences ont été significatives. La différence significative remarquée entre t=0 jour et t=5 jours n'est pas suffisante pour différencier le traitement entre Greenpig et celui du témoin (cf. Figure 72). La réduction de la DCO, sur la durée de l'expérience, n'a pas été positive dans le sens où deux bio-additifs (*i.e.* Sealand et Septonic) ont eu des taux de réduction significativement inférieurs à celui du témoin.

V.2.9. Les coliformes fécaux

La Figure 48 représente la réduction logarithmique des coliformes fécaux en fonction du temps d'incubation pour les cinq échantillons analysés. Le paramètre des coliformes fécaux a été étudié en termes de réduction logarithmique pour faciliter l'exploitation statistique.

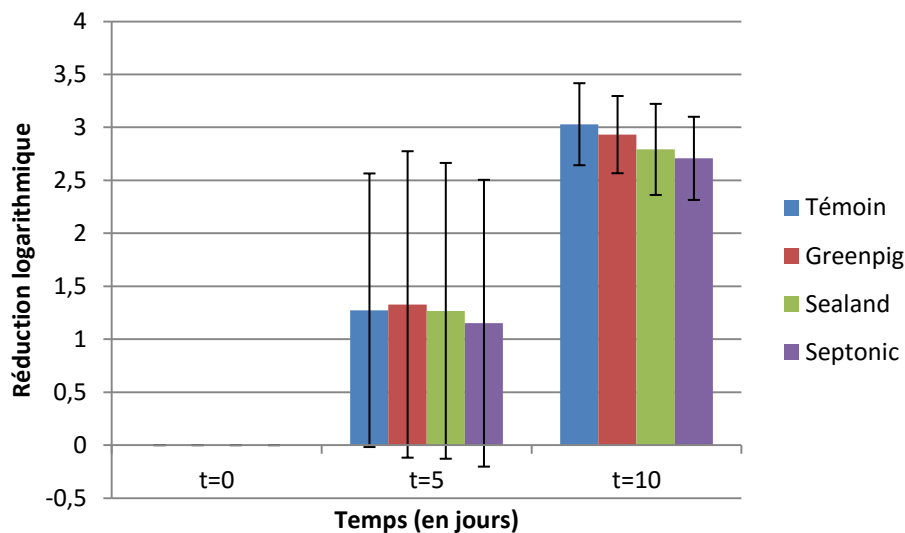


Figure 48 : La réduction des coliformes fécaux avec l'écart-type sur les répétitions.

D'après les résultats obtenus à la Figure 48 et en considérant les écart-types, aucune amélioration significative de l'abattement des coliformes fécaux n'a été remarquée sur les cinq échantillons analysés. De plus, une forte variabilité dans les résultats obtenus a été remarquée pour les mesures au temps $t=5$ jours. Cette forte variation est due à la qualité des échantillons de boue de fosse septique. La concentration initiale en coliformes fécaux de chaque échantillon collecté a été hétérogène. Chaque boue de fosse septique possède des caractéristiques différentes résultant des paramètres extérieurs (âge de la boue, caractéristiques intrinsèques de l'effluent, ...). De plus, le conditionnement des boues de fosse septique à une température de 35°C a eu un effet sur la biomasse présente. Un temps d'adaptation aux nouvelles conditions de l'expérience a été nécessaire ce qui a entraîné des variations dans la concentration en coliformes fécaux et donc une forte variabilité dans les taux de réduction obtenus. Les variations sont moins marquées pour la seconde partie de l'expérience car la biomasse s'est adaptée à son nouvel environnement. Le taux de réduction des coliformes fécaux est donc moins important car, à ce moment de l'expérience, la biomasse bactérienne dispose des conditions de stabilité nécessaires pour son développement (disponibilité en nutriments, température favorable, ...).

V.2.10. L'analyse de la variance pour les coliformes fécaux

L'analyse de la variance a permis de mettre en évidence les différences significatives entre les quatre traitements. Les résultats présentés en gras dans le Tableau 17 sont significatifs au seuil d'erreur de 5%.

Tableau 17 : Résultats de l'analyse statistique pour les coliformes fécaux.

Coliformes fécaux	p-value	
	Réduction (t0-t5)	Réduction (t0-t10)
ANOVA	0,000	0,000
Test de Dunnett	Sealand≠Témoin	Sealand≠Témoin Septonic≠Témoin

L'analyse statistique a fait ressortir des différences significatives pour les temps de réduction. Les différences sont notables au niveau de deux bio-additifs : Sealand et Septonic pour la durée totale de l'expérience, et Sealand pour l'abattement à mi-expérience. Cependant, les taux de réduction ont été inférieurs au témoin pour ces trois occurrences.

Pour les quatre paramètres analysés précédemment, aucun effet positif des bio-additifs appliqués n'a été remarqué. Pour les trois bio-additifs utilisés, les taux de réduction ont été inférieurs ou égaux à la dégradation naturelle simulée. Les seules différences significatives remarquées correspondent à une perte d'efficacité dans les bouteilles contenant les bio-additifs par rapport à celles du témoin, et ce sur l'ensemble des expériences réalisées.

La seconde partie du projet s'est intéressée à la conception des méthodes analytiques de mesure de l'activité méthanogène et de leur validation en termes de fiabilité.

V.3. Conception de montages expérimentaux pour la mesure de l'activité méthanogène

V.3.1. Activité méthanogène avec les montages BMP v.1 et v.2

Pour cette expérience, un échantillon de boue de fosse septique et deux bio-additifs ont été utilisés. L'activité méthanogène produite par l'échantillon donne des résultats présentant une forte variabilité pour le montage BMP v.1 (Tableau 18). De plus, certains montages ne semblent pas être performants. Des tests de fiabilité ont été mis en place pour évaluer la pertinence des résultats donnés par chaque montage (cf. méthodologie au chapitre IV.3.2).

Tableau 18 : Résultats de l'activité méthanogène (montage BMP v.1).

N° montage	TEMOIN			GREENPIG			SEALAND		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Temps (heures)	Volume de CH ₄ (mL)								
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16,5	16	10	21	10	>200	>200	19	98	5
45	16	10	161	10	134	>200	27	98	57
114	16	10	165	13	134	>200	27	98	57

Les résultats pour le montage BMP v.2 sont répertoriés dans le Tableau 19. Le manque de matériel, notamment les embouts en nylon, a limité le nombre de configurations. Seulement un triplicata pour le témoin et pour le bio-additif Greenpig ont été réalisés.

Tableau 19 : Résultats de l'activité méthanogène (montage BMP v.2).

Temps (heures)	TEMOIN			GREENPIG		
	Volume de CH ₄ (mL)			Volume de CH ₄ (mL)		
0	0	0	0	0	0	0
16,5	26	32	71	10	26	67
45	32	53	76	10	38	76
114	55	80	97	20	85	100

Au vu du manque de confiance dans la justesse des résultats, des tests de fiabilité ont été mis en place pour évaluer le montage BMP v.1. Ils ont également été utilisés pour évaluer la robustesse des montages BMP v.2. Les prototypes proposés ont dû répondre à cette série de tests avant le lancement des expériences finales. Le critère recherché dans la conception des montages est l'étanchéité assurant ainsi une récupération intégrale du méthane produit par l'échantillon. Les tests de fiabilité se sont donc concentrés sur cet aspect. Les pertes hydrostatiques et la récupération de gaz ont été évaluées.

V.3.2. Résultats des tests de fiabilité du montage BMP v.1

V.3.2.1. Test d'effervescence n°1

Les résultats obtenus pour les tests d'effervescence n°1, en triplicata pour chaque montage BMP v.1 disponible, sont répertoriés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Premier test d'effervescence sur les montages BMP v.1.

N° du montage BMP v.1	Volumes de CO ₂ obtenus (mL)			Commentaires
1	11	10	10	
2	9	8	8	
3	7	7	9	Écoulement d'eau
4	9	9	9	
5	10	10	9	
6	12	10	Fuites	Fuite d'eau au niveau des connexions
7				Non testé
8				Non testé
9				Non testé

Le manque de confiance dans les résultats laisse penser que le test d'effervescence n°1 n'est pas optimal. Les volumes récupérés sont très en deçà de la valeur prédite (environ 38mL). Malgré le manque de confiance dans le déroulement du test, la fiabilité des montages fonctionnels testés n'a pas été établie. La seule observation pertinente concerne le dysfonctionnement du montage n°6, dû aux fuites dans les connexions. Sur l'ensemble des tests, les écarts notés entre la valeur-cible et les valeurs expérimentales sont importants. De par la difficulté à mettre en évidence l'efficacité de cette méthode, un deuxième test d'effervescence a donc été mis en place pour essayer de valider la fiabilité des montages à disposition. La méthode et le matériel ont été quelque peu modifiés pour faciliter la réalisation des essais.

V.3.2.2. Test d'effervescence n°2

Les résultats obtenus pour le test d'effervescence n°2 sont répertoriés dans le Tableau 21. Dans cet exercice, les paramètres extérieurs ont été pris en compte dans la détermination du volume de CO₂ obtenu. La pression et la température ont permis de prédire le volume dégagé par la réaction.

Tableau 21 : Deuxième test d'effervescence sur les montages BMP v.1.

N° du montage BMP v.1	Conditions expérimentales	Volume de CO ₂ prédit (mL)	Volumes de CO ₂ obtenus (mL) (% d'écart avec la valeur cible)	Commentaires
1	24°C- 1008,70hPa	123	123 (0%) 125 (2%) 124 (1%)	
2	24°C- 1018,9hPa	121,7	128 (5%) 132 (8%) 123 (1%)	
3			112 (8%) 120 (1,5%) 103 (15,5%)	Écoulement d'eau
4	24°C- 1016,8hPa	122	114 (6,5%) fuite 110 (10%)	
5			114 (6,5%) 100 (18%) 116 (5%)	
6	24°C- 1015,6hPa	122	Non testé (défectueux)	Fuite d'eau au niveau des connexions
7			112 (8%) 127 (4%) 120 (2%)	

8	24°C- 1019,2hPa	121,7	128 (5%)	114 (7%)	119 (2,5%)	
9			120 (1,5%)	110 (10,5%)	114 (7%)	

Ici également, les résultats ont une variabilité importante par rapport à la valeur cible. Afin de palier à la difficulté à mettre en place une méthode efficace de récupération gazeuse, l'approche expérimentale a été modifiée. Une troisième version de test d'effervescence a donc été envisagée pour évaluer la fiabilité des montages.

V.3.2.3. Test d'effervescence n°3

Le Tableau 22 donne les volumes de CO₂ dégagé en fonction du volume d'eau déminéralisée utilisé.

Tableau 22 : Volume de CO₂ dégagé par les pastilles Alka Seltzer™.

Volume d'eau déminéralisée (mL)	Volume de CO ₂ dégagé (mL)										Volume moyen (mL)
300	180	160	160	170	160	180	160	160	180	160	167
100	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260	260
50	310	310	320	300	300	310	300	310	300	310	307

Des essais ont été réalisés pour déterminer la quantité de CO₂ dégagé par une pastille dans 300mL d'eau déminéralisée. Les variations obtenues sont telles que le volume utilisé a été diminué afin de limiter au maximum la solubilisation du CO₂. Pour s'assurer de la fiabilité des montages, le volume d'eau déminéralisée utilisé pour le test d'effervescence sélectionné est donc de 100mL.

V.3.2.4. Tests de fiabilité du montage BMP v.1

Maintenant que le volume moyen de CO₂ dégagé par les pastilles d'Alka-Seltzer™ dans 100mL d'eau déminéralisée est connu, le test de fiabilité peut être utilisé sur les montages à tester.

Les résultats obtenus pour la récupération gazeuse des pastilles Alka Seltzer™, et au bout de cinq jours pour les pertes hydrostatiques, pour les montages BMP v.1 sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Tests de fiabilité sur les montages BMP v.1.

Montages	Pertes hydrostatiques (mL)	Volume de CO ₂ récupéré (mL) (% d'écart avec la valeur cible : 260mL)	Volume moyen (mL)
1	10	286 (10%) 295 (13%) 297 (14%)	293
2	8	290 (11,5%) 295 (13%) Fuites	Fuites
3	7	287 (10,5%) 292 (12%) 295 (13%)	291
4	9	290 (11,5%) 284 (9%) 270 (4%)	281
5	10	294 (13%) 286 (10%) 280 (7,5%)	287
6	Fuites	Fuites Fuites Fuites	Fuites
7	5	275 (6%) 277 (6,5%) 298 (14,5%)	283
8	8	297 (14%) Fuites 282 (8,5%)	Fuites
9	7	295 (13%) 287 (10,5%) 290 (11,5%)	291

Plusieurs des montages testés ont présenté des fuites. Les écarts entre les volumes récupérés et le volume attendu sont importants pour la plupart des résultats obtenus (~10%), ce qui montre que les

montages BMP v.1 ne semblent pas être fiables concernant la récupération d'un volume gazeux sur une courte période de mesure. Cela laisse donc à penser que les montages BMP v.1 ne retranscrivent pas des résultats justes concernant la mesure de récupération de gaz sur une plus longue durée.

Les tests de pertes hydrostatiques ont donc été faits pour valider l'intégrité des montages. Lors de la troisième récupération de gaz pour le montage n°2, un liquide jaune s'est écoulé de la connexion de la bouteille renversée faisant ainsi apparaître un défaut majeur dans sa fabrication. Le montage n°6 a également fait l'objet de fuites pour les tests de fiabilité réalisés. Il a donc été éliminé des expériences ultérieures. Le volume en CO₂ d'une des trois récupérations pour le montage n°8 a dépassé les 300mL contenus dans la bouteille, dévoilant ainsi un dysfonctionnement lors de l'utilisation du montage. Au vu des résultats obtenus concernant la fiabilité des montages BMP v.1, une version 2 a été conçue afin d'améliorer l'étanchéité de la méthode de mesure.

V.3.3. Résultats de conception et tests de fiabilité du montage BMP v.2

Dans le cadre de l'étude, une nouvelle version du montage BMP utilisé précédemment a été conçue, afin de pallier aux problèmes de manque de confiance dans les montages disponibles. Le nouveau montage a été conçu dans le but d'améliorer la fiabilité de la méthode mais également pour permettre des mesures sur le terrain. Les paramètres étudiés pour ce dernier critère sont la transportabilité, l'ergonomie et une facilité d'utilisation. De plus, le montage doit être peu cher et les matériaux utilisés doivent être facilement disponibles. Par la suite, ce montage a été nommé montage BMP v.2.

Un test de pertes hydrostatiques a été réalisé sur les montages BMP v.2 conçus. Les montages réussissant cette épreuve ont été sélectionnés pour la récupération de gaz avec les pastilles d'Alka Seltzer™. D'après le Tableau 24, les montages ayant une perte hydrostatique acceptable sont les montages n°1, 3 et 4. Ils sont donc retenus pour subir les tests de récupération gazeuse avec les pastilles Alka Seltzer™. Les résultats sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 24 : Pertes hydrostatiques pour les montages BMP v.2 testés.

Montages	1	2	3	4	5	6
Pertes hydrostatiques (mL)	1	2,4	1	1	>100	4,6

Tableau 25 : Récupération de gaz avec les pastilles Alka Seltzer™ pour les montages BMP v.2 choisis.

Montages	1	3	4
Récupération de gaz (mL)	252	256	263
	268	259	257
	263	262	259
Volume moyen (mL)	261	259	260
Volume attendu (mL)	260		

D'après les résultats obtenus (cf. Tableau 24 et Tableau 25), les montages BMP v.2 sont moins sujets à des erreurs de mesure dues aux fuites et aux pertes hydrostatiques que les montages BMP v.1. Les tests de fiabilité menés précédemment ont donc également été réalisés sur le montage BMP v.2, afin de valider les prototypes fabriqués. Au total, six montages BMP v.2 ont été fabriqués, mais seulement trois ont été retenus. Les montages 1, 3 et 4 du BMP v.2 ont donc été retenus pour les expériences de mesure de l'activité méthanogène des boues de fosse septique.

Pour la comparaison des méthodes de mesure de l'activité méthanogène, le système Oxitop® a été utilisé comme référence.

V.3.4. L'activité méthanogène et comparaison des méthodes de mesure

Pour tous les essais réalisés, la mesure de l'activité méthanogène a été suivie grâce à la méthode Oxitop® et ce pour tous les traitements appliqués. Elle a permis de faire la comparaison entre les volumes de méthane produit entre les différents traitements (cf. Tableau 26). Des différences importantes au niveau des volumes obtenus ont été remarquées pour l'échantillon n°2 à l'intérieur des réplicas du témoin dues principalement à une activité méthanogène plus instable pour le *Témoin 1*, causée par une perte de pression aux alentours de deux jours (~3000 minutes) après le lancement de l'expérience (cf. Figure 64). Le différentiel de pression a donc été plus important pour le *Témoin 1* que pour le *Témoin 2*. Des différences dans les volumes de méthane obtenus ont été également notées, pour le même échantillon, entre les réplicas du traitement Septonic. Cette variation est due à une activité méthanogène plus faible pour le *Septonic 1*. Une diminution de la production de méthane s'est produite dans les derniers temps de l'expérience, à partir d'environ six jours (~9000 minutes) après le lancement de l'expérience (cf. Figure 64).

Tableau 26 : Méthane produit pour les différents traitements et pour chaque échantillon de boue utilisé.

Traitement	Volume de CH ₄ (mL) produit entre t=5 jours et t=10 jours				
	Échantillon 2	Échantillon 3	Échantillon 4	Échantillon 5	Échantillon 6
Témoin 1	15,5	36,8	35,8	12,8	12,1
Témoin 2	8,82	38,2	38,2	14,5	11,5
Greenpig 1	9,52	27,2	27,2	13,5	12,1
Greenpig 2	6,43	33,5	33,5	15,4	15,5
Sealand 1	7,63	34,9	34,9	14,8	7,10
Sealand 2	5,70	38,2	38,2	14,1	15,8
Septonic 1	3,99	38,5	38,5	12,8	14,5
Septonic 2	10,2	30,5	35,0	12,5	13,5

Le témoin de l'Oxitop® a également été utilisé pour vérifier la validité des résultats expérimentaux obtenus avec les méthodes de mesure conçues en laboratoire. Un exemple de courbe de pression en fonction du temps obtenu avec le système Oxitop® est présenté à la Figure 17.

Le but de cette expérience n'est pas de connaître le volume total de méthane produit par l'échantillon mais de comparer l'activité méthanogène entre les différents montages. Une comparaison a été faite également entre les différents traitements pour évaluer l'effet des bio-additifs sur la dégradation anaérobie. Donc pour se soustraire au phénomène de dépression des trois premiers jours et éviter par le fait même des erreurs dues aux calculs de volumes, l'analyse statistique a été seulement faite sur le différentiel de volumes entre la fin de l'expérience et la moitié de l'expérience (entre t=10 jours et t=5 jours).

Le Tableau 27 montre un exemple de calcul du volume de méthane produit pour le duplicata du témoin de l'Oxitop® et les triplicatas pour les deux montages expérimentaux. Les volumes en gras correspondent aux valeurs qui sont comparées lors de cet essai. Les pressions données par le système Oxitop® sont transformées en volumes de méthane grâce à la loi de Boyle-Mariotte. Les volumes de méthane pour les deux montages expérimentaux sont quant à eux des lectures aux temps t=5 jours et t=10 jours. Pour pouvoir faire la comparaison avec la référence (*i.e.* le système Oxitop®), la mesure de l'activité méthanogène a été faite sur un différentiel de volume entre cinq et dix jours de l'expérience. La comparaison a été réalisée avec une ANOVA à un facteur (*i.e.* le montage). Les résultats pour les autres échantillons sont présentés en annexe 8.

Tableau 27 : Volume de CH₄ produit par la référence et par les montages expérimentaux (essai n°3).

	Pression à t=5 jours	Pression à t=10 jours	Différentiel de pression			Volume de CH ₄			
Oxitop 1	-62hPa	102hPa	164hPa			36,8mL			
Oxitop 2	-59hPa	118hPa	177hPa			38,2mL			
	Volume de CH ₄ à t=5 jours			Volume de CH ₄ à t=10 jours			Volume de CH ₄ sur 5 jours		
Montage BMP v.2	77mL	94mL	65mL	36mL	36mL	32mL	29mL	14mL	33mL
Montage seringue	106mL	108mL	98mL	88mL	83mL	78mL	52mL	47mL	46mL

V.3.5. L'analyse de la variance pour l'activité méthanogène

L'analyse de la variance sur l'activité méthanogène sous l'effet des bio-additifs utilisés n'a pas été significative, c'est-à-dire que les volumes de méthane produit ne sont pas statistiquement différents. Le fait que les volumes de méthane produit soient les mêmes, sur l'ensemble des essais et pour tous les traitements appliqués, signifie que l'action des bio-additifs n'a pas eu d'amélioration de la dégradation anaérobie, dans les conditions et sur la durée de l'expérience. Les résultats présentés au Tableau 28 sont détaillés en annexe 11.

Tableau 28 : Résultats de l'analyse de la variance pour l'activité méthanogène.

Activité méthanogène	p-value Volume de CH ₄ mesuré
ANOVA	0,208
Test de Dunnett	NR

V.3.6. L'analyse de la variance pour la comparaison des montages

L'analyse de la variance entre les deux montages expérimentaux et le système Oxitop® n'a pas fait ressortir de différences significatives (Tableau 29). D'après les tests statistiques réalisés sur la totalité des résultats obtenus, les volumes mesurés entre les différents montages sont donc, au seuil

de confiance fixé de 95%, similaires. Au vu des résultats obtenus lors des expériences, les montages expérimentaux peuvent être considérés comme étant fiables concernant les volumes mesurés de méthane. Le détail des calculs est présenté en annexe 11.

Tableau 29 : Résultats de l'analyse de la variance pour les montages utilisés.

Montages	p-value Volume de CH ₄ mesuré
ANOVA	0,356
Test de Dunnett	NR

V.4. Discussion concernant l'étude

V.4.1. Les limitations de l'étude des bio-additifs testés

Les principales limitations de l'étude résident dans les conditions expérimentales contrôlées lors de la réalisation des essais : le volume d'échantillon, le temps d'incubation et la température. Tout d'abord, l'absence de fosses septiques grandeur nature à disposition et en fonctionnement a orienté les expériences vers des tests réalisés en laboratoire dans des systèmes fermés sans flux, ni apports extérieurs (*i.e.* traitement en batch dans des bouteilles). De par la limitation dans le temps pour la réalisation d'un nombre suffisant d'essais sur différents échantillons de boue de fosse septique, l'apport de substrat dans chacune des bouteilles a été restreint à 50mL afin de réduire la période de l'expérience. Dans les conditions de laboratoire, des volumes plus importants auraient pu être utilisés pour connaître le comportement des bio-additifs sur des volumes de boue de fosse septique plus conséquents et sur des temps d'incubation plus longs. Pour la mesure de la pression de méthane produit, la diminution de l'espace de tête laissé libre dans les bouteilles aurait eu comme impact de réduire la phase de latence. Pour une même durée d'expérience, la plage de données aurait été plus importante pour ce paramètre et donc de l'information supplémentaire aurait été disponible. La difficulté à obtenir un nombre important de données concernant les différents paramètres à analyser et ce sur plusieurs types d'échantillons de boue de fosse septique a amené à limiter la période d'incubation des échantillons. Un compromis a donc été fait entre le temps nécessaire pour évaluer l'effet des bio-additifs utilisés et un nombre suffisant d'échantillons pour les analyses statistiques. Cette période est bien entendu suffisante pour évaluer l'effet des bio-additifs selon le temps de séjour moyen dans les fosses septiques, mais leur impact n'a pas été testé sur des périodes de temps plus longues. Cependant, d'après les résultats obtenus dans la littérature

existante, l'augmentation de ces facteurs n'a pas influencé de manière positive le rôle des bio-additifs sur la dégradation des boues de fosse septique. En effet, des études ont été menées sur un grand nombre de fosses septiques et sur des périodes de temps plus réalistes. Des chercheurs ont testés lors de trois études (Pradhan et al. 2008 ; Pradhan et al. 2011a ; Pradhan et al. 2011b), l'effet de bio-additifs sur quarante-huit fosses septiques en fonctionnement et à des niveaux de maintenance différents sur une période de temps de douze mois. L'influence des bio-additifs, sur l'ensemble des analyses réalisées, n'a pas été démontrée malgré le fait que les auteurs aient cherché à simuler le rôle des traitements dans des conditions réelles. Aucune différence positive sur le long terme et significative n'a été obtenue avec l'utilisation des bio-additifs en comparaison avec la dégradation naturelle se produisant dans les fosses septiques. Des études ont également été réalisées en laboratoire, mais l'efficacité des bio-additifs n'a pas été démontrée (Diak et al. 2012). Les paramètres mesurés (populations microbiennes, solides totaux, solides volatils, demande chimique en oxygène, etc.) sur l'ensemble des expériences, et les résultats des analyses statistiques n'ont pas démontré de rôle des bio-additifs utilisés dans l'amélioration de la dégradation des déchets à l'intérieur des fosses septiques.

Avec des ressources nécessaires en temps et en matériel, l'influence des variations de température sur la cinétique de dégradation aurait pu être étudiée afin d'obtenir plus d'informations sur le rôle des bio-additifs. La possibilité dans cette étude en laboratoire de faire varier un paramètre non contrôlé lors d'expériences sur le terrain aurait permis d'élargir les conclusions sur le manque d'efficacité des bio-additifs. La température appliquée ici représente une condition favorable à la dégradation anaérobie des déchets contenus dans les échantillons. La température testée a favorisé le développement de la biomasse mésophile afin de diminuer le temps d'expérience et ainsi augmenter le nombre de répétitions possibles et nécessaires pour l'exploitation statistique des résultats. Les essais se sont concentrés sur une possible amélioration de la dégradation avec les bio-additifs dans des conditions favorables. Cependant, cette condition ne représente pas la simulation d'une fosse septique dans un contexte canadien, c'est-à-dire à des températures plus froides et sur des périodes de temps plus longues. Malgré des conditions favorables, le rôle des bio-additifs dans la dégradation des boues fosse de septique n'a pas été prouvé.

V.4.2. La législation concernant les bio-additifs

La législation nord-américaine concernant les additifs pour le traitement des fosses septiques ne dispense pas les propriétaires de faire vidanger les unités de traitement régulièrement. L'agence américaine de la protection de l'environnement (USEPA) ne recommande pas l'utilisation des

additifs pour les systèmes septiques. Certains d'entre eux peuvent réellement interférer avec les processus de traitement et affecter la décomposition biologique des déchets, du fait de la présence d'une grande variété et d'un grand nombre de microorganismes dans les systèmes septiques (USEPA 2002). Les bactéries et/ou levures ajoutées dans les fosses septiques ne sont pas nécessaires car les microorganismes présents dans les fosses septiques sont suffisants à la dégradation des déchets (MDDELCC 2007). Tout comme le préconise la législation en vigueur au Canada ainsi qu'au Québec, l'usage de certains additifs peut avoir des effets néfastes sur les composantes du dispositif de traitement et la structure du sol (MDDELCC 2007). Ils favorisent la solubilisation des graisses et interfèrent dans la sédimentation des solides. De plus, ces produits commerciaux vendus comme agent de traitement sont préjudiciables pour l'environnement et la qualité des ressources en eau souterraine (USEPA 2002; MDDELCC 2007).

V.4.3. Les limitations pour la conception des montages

Le nombre d'essais réalisés pour les mesures de l'activité méthanogène des montages conçus s'est restreint au cadre de l'étude. Par manque de temps nécessaire à l'élaboration des montages expérimentaux et à la conduite des expériences de mesure de l'activité méthanogène, la mise en place de méthodes analytiques a été réalisée en parallèle à l'étude de l'influence des bio-additifs. Mais en réalité, les deux volets abordés ici auraient pu faire l'objet de deux projets distincts en matière de temps et de ressources alloués. Dans cette optique, les répétitions auraient été plus nombreuses, augmentant ainsi la puissance des résultats des tests statistiques. Comme précédemment pour l'évaluation du rôle des bio-additifs, le volume d'échantillon ajouté dans les montages et le temps d'incubation auraient pu être plus importants afin de bénéficier d'informations supplémentaires concernant le comportement des méthodes de mesure mises en place. L'augmentation du volume d'échantillon dans les montages conçus aurait modifié quelque peu la configuration. Des bouteilles de contenance plus importante auraient pu être utilisées.

Bien que les objectifs concernant la conception de montages expérimentaux pour la mesure de l'activité méthanogène aient été atteints, la limitation principale réside dans la finalité des méthodes de mesure conçues. Par manque de temps et de ressources nécessaires, l'opportunité de réaliser des essais sur le terrain avec les montages a été manquée. Dans un contexte où les ressources sont limitées, l'évaluation du comportement dans des conditions réelles auraient permis de faire ressortir les lacunes possibles des montages conçus. D'autre part, la conduite de la recherche d'un test de fiabilité pour la validation des montages, aurait également pu être approfondie afin de concevoir une trousse de vérification accompagnant la méthode de mesure. Ce kit de fiabilité aurait été composé

d'un volume d'eau déminéralisée précis à insérer dans le montage à tester (par ex. 100mL), et d'une pastille effervescente de masse et de composition connues. L'attention aurait pu être portée sur les conditions expérimentales, c'est-à-dire les variations de pression et de température qui influent sur les données. L'utilisation d'un thermomètre et d'un baromètre aurait été nécessaire. Une grille de correspondance entre la température, la pression et le volume de CO₂ dégagé par la pastille aurait été utile afin de valider la précision de la méthode de mesure, avant le lancement des essais sur le terrain. Le cas échéant, ces informations auraient été fournies avec les instructions d'utilisation de la méthode analytique de mesure.

VI. CONCLUSION

Des essais ont été effectués dans le but d'évaluer le potentiel des bio-additifs vendus sur le marché canadien dans la dégradation des boues de fosse septique. Au travers des expériences réalisées, des paramètres mesurés et des analyses statistiques menées, la réduction de la matière organique, des solides, des coliformes fécaux et l'activité méthanogène ont été évaluées. L'effet des bio-additifs concernant la dégradation des boues de fosse septique n'a pas été démontré. Malgré une forte variabilité dans les résultats obtenus due à la nature propre de chaque échantillon, aucune amélioration significative des produits de traitement n'a été observée en comparaison avec le témoin, sur l'ensemble des expériences et au seuil de confiance fixé ($\alpha=0,05$). De manière récurrente, deux des bio-additifs utilisés (*i.e.* Sealand et Septonic) ont même eu un effet négatif sur les paramètres mesurés. Sous l'action de ces deux produits de traitement, la dégradation a été plus faible que la dégradation naturelle opérée dans le témoin. Les conclusions de cette étude sont cependant à nuancer. Du fait d'un nombre important de bio-additifs disponibles sur le marché et face à l'impossibilité de réaliser une analyse exhaustive de tous les produits vendus, les conclusions concernant leur efficacité ont donc été faites grâce aux observations et aux analyses menées lors de cette étude et lors des recherches antérieures. De plus, l'aspect législatif et environnemental a été pris en considération. Du côté de la législation en vigueur, l'utilisation de ces produits commerciaux n'est pas recommandée. Les bio-additifs sont capables d'interférer avec les processus de traitement et contaminer l'environnement.

La seconde partie du projet s'est intéressée à la mise au point et à la validation de montages expérimentaux de mesure de l'activité méthanogène. Lors de la conception, plusieurs critères ont été recherchés. Les montages devaient être transportables ou facilement disponibles et/ou réparables, peu chers et capables de donner des résultats fiables. Une attention particulière a donc été portée sur l'étanchéité des prototypes. En effet, la fiabilité d'une méthode de mesure et de récupération de gaz réside dans le fait qu'elle soit hermétique aux échanges gazeux avec l'extérieur. Dans le cadre de l'étude et avec les informations disponibles, la majorité des objectifs concernant les montages pour la mesure de l'activité méthanogène ont été atteints. Tout d'abord, le matériel utilisé pour la conception est facilement transportable car il est peu volumineux et léger. Toutes les pièces utilisées pour les deux montages sont en plastique. Si des expériences nécessitent des volumes d'échantillon important, le volume des récipients peut être modifié. De plus, le matériel utilisé n'est soumis à aucune restriction douanière si le transport est réalisé par voie aérienne par exemple. Dans le cas où le transport du matériel n'est pas envisageable, la plupart des composantes

sont facilement disponibles et/ou remplaçables. À titre d'exemple, les seringues utilisées sont vendues régulièrement en pharmacie, et les bouteilles accueillant l'échantillon peuvent être remplacées par des bouteilles de boissons gazeuses, censées empêcher le gaz de s'échapper, auxquelles l'adaptation de la connexion et de la tubulure peut être faite facilement. Les outils utilisés (briquet et forets de perceuse) pour la réalisation des montages peuvent être également soit transportés soit achetés sur place. Ensuite, le prix pour la fabrication des méthodes de mesure ne s'est pas élevé à plus de quelques dizaines de dollars canadiens. Bien évidemment, ce tarif peut être amené à varier selon les changements effectués sur les composantes du montage. Finalement grâce aux résultats obtenus, les analyses statistiques ont permis d'évaluer la robustesse des deux montages conçus au laboratoire. Les différences observées entre la référence (*i.e.* le système Oxitop®) et les montages BMP v.2 et Seringue n'ont pas été significatives, c'est-à-dire que les données récoltées sont, au seuil de confiance fixé, similaires.

VII. BIBLIOGRAPHIE

- Angelidaki, I., M. Alves, D. Bolzonella, L. Borzacconi, L. Campos, A. Guwy, P. Jenicek, S. Kalyuzhnyi, and J. van Lier. 2007. "Anaerobic Biodegradation, Activity and Inhibition (ABAI) Task Group Meeting 9th to 10th October 2006, in Prague." Report 978-87-91855-44-3. Institute of Environment & Resources, Technical University of Denmark.
- APHA (American Public Health Association). 1999. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater (20th Edition)*. 20th edition. Washington, DC: Lenore S. Clesceri, Arnold E. Greenberg, Andrew D. Eaton.
- Ayres, R. M., and D. D. Mara. 1996. *Analysis of Wastewater for Use in Agriculture: A Laboratory Manual of Parasitological and Bacteriological Techniques*. WHO.
- Bachmann, N., M. Deront, H. Fruteau de Lacroix, C. Holliger, Y. Membrez, and A. Wellinger. 2011. "Optimisation Des Tests Standardisés de Digestibilité Dans Des Réacteurs Batch." <http://infoscience.epfl.ch/record/174559>.
- Brandes, Marek. 1978. "Accumulation Rate and Characteristics of Septic Tank Sludge and Septage." *Journal (Water Pollution Control Federation)* 50 (5): 936–43.
- Diak, James, Banu Örmeci, and Kevin J. Kennedy. 2012. "Effect of Enzymes on Anaerobic Digestion of Primary Sludge and Septic Tank Performance." *Bioprocess and Biosystems Engineering* 35 (9): 1577–89. doi:10.1007/s00449-012-0748-7.
- Dow, D., and G. Loomis. 2005. "Septic Tank Additives." University of Rhode Island Cooperative Extension Service, Onsite Wastewater Training Center, Kingston, RI.
- Elmitwalli, Tarek. 2013. "Sludge Accumulation and Conversion to Methane in a Septic Tank Treating Domestic Wastewater or Black Water." *Water Science & Technology* 68 (4): 956–64. doi:10.2166/wst.2013.337.
- Excavation René Morency. 2014. "Les Avantages et Les Coûts D'une Fosse Septique Au Québec." <http://www.drainagequebec.com/les-avantages-et-les-couts-dune-fosse-septique-au-quebec/>.
- Foxon, K. M., S. Mkhize, M. Reddy, and C. A. Buckley. 2009. "Laboratory Protocols for Testing the Efficacy of Commercial Pit Latrine Additives." *Water SA* 35 (2): 228–35.
- Gray, N. F. 1995. "The Influence of Sludge Accumulation Rate on Septic Tank Design." *Environmental Technology* 16 (8): 795–800. doi:10.1080/09593331608616318.
- Guwy, A. J. 2004. "Equipment Used for Testing Anaerobic Biodegradability and Activity." *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* 3 (2): 131–39. doi:http://dx.doi.org.acces.bibl.ulaval.ca/10.1007/s11157-004-1290-0.
- Hartley, Ken, and Paul Lant. 2006. "Eliminating Non-Renewable CO₂ Emissions from Sewage Treatment: An Anaerobic Migrating Bed Reactor Pilot Plant Study." *Biotechnology and Bioengineering* 95 (3): 384–98. doi:10.1002/bit.20929.
- Hussain, Athar, and Shashi Kant Dubey. 2015. "Specific Methanogenic Activity Test for Anaerobic Degradation of Influent." *Applied Water Science*, July, 1–8. doi:10.1007/s13201-015-0305-z.
- Jantrania, A., W.A. Sack, and V. Earp. 1994. "Evaluation of Additives for Improving Septic Tank Operation under Stressful Conditions." Proceedings of the International Symposium on Individual and Small Community Sewer Systems (Pp. 49-57). Atlanta, GA: American Society of Agricultural Engineers (ASAE): The society for engineering in agricultural, food and biological systems.
- Kaplan, B. 1983. "Some Additives to Septic Systems May Poison Groundwater." *Journal of Environmental Health* 45 (5): 259.
- Kelly, John, and Josée Serrurier. 2016. "Sanivac." [Http://www.sanivac.ca/](http://www.sanivac.ca/). Accessed February 2. <http://www.sanivac.ca/images/services/schema-fosse-fr.png>.

- Lossing, Heather, Pascale Champagne, and P. James McLellan. 2010. "Examination of Sludge Accumulation Rates and Sludge Characteristics for a Decentralized Community Wastewater Treatment Systems with Individual Primary Clarifier Tanks Located in Wardsville (Ontario, Canada)." *Water Science & Technology* 62 (12): 2944–52.
- MDDELCC. 2007. *Traitement des eaux usées des résidences isolées guide technique*. [Québec]: Service des eaux municipales, Direction des politiques de l'eau, Ministère du développement durable, de l'environnement et des parcs. <http://www4.banq.qc.ca/pgq/2007/3314672.pdf>.
- Metcalf & Eddy. 1991. *Wastewater Engineering: Treatment Disposal Reuse*. McGraw-Hill. Third Edition. New York.
- . 2003. *Wastewater Engineering: Treatment and Reuse*. McGraw Hill. Fourth Edition.
- Müller, Wolf-Rüdiger, Irene Frommert, and Ralf Jörg. 2004. "Standardized Methods for Anaerobic Biodegradability Testing." *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology* 3 (2): 141–58. doi:10.1007/s11157-004-4350-6.
- National Small Flows Clearinghouse. 2002. "Septic Tank Additives." In . Vol. Volume 3. Small Flows Quarterly.
- Owen, W. F., D. C. Stuckey, J. B. Healy Jr., L. Y. Young, and P. L. McCarty. 1979. "Bioassay for Monitoring Biochemical Methane Potential and Anaerobic Toxicity." *Water Research* 13 (6): 485–92. doi:10.1016/0043-1354(79)90043-5.
- Pereira, C. P. Pabón, G. Castañares, and J. B. van Lier. 2012. "An OxiTop® Protocol for Screening Plant Material for Its Biochemical Methane Potential (BMP)." *Water Science and Technology* 66 (7): 1416–23. doi:10.2166/wst.2012.305.
- Pognani, Michele, Raquel Barrena, Xavier Font, and Antoni Sánchez. 2012. "Effect of Freezing on the Conservation of the Biological Activity of Organic Solid Wastes." *Bioresource Technology* 104 (January): 832–36. doi:10.1016/j.biortech.2011.11.097.
- Pradha, S., Michael T. Hoover, G. H. Clark, M. Gumpertz, C. Cobb, and J. Strock. 2011. "Impacts of Biological Additives, Part 2: Septic Tank Effluent Quality and Overall Additive Efficacy." *Journal of Environmental Health* 74 (5): 22–28 7p.
- Pradhan, S., M T Hoover, G H Clark, M Gumpertz, A G Wollum, C Cobb, and J Strock. 2008. "Septic Tank Additive Impacts on Microbial Populations." *Journal Of Environmental Health* 70 (6): 22.
- Pradhan, S., Michael T. Hoover, G. H. Clark, M. Gumpertz, C. Cobb, and J. Strock. 2011a. "Impacts of Biological Additives, Part 1: Solids Accumulation in Septic Tanks." *Journal of Environmental Health* 74 (5): 16–21 6p.
- . 2011b. "Impacts of Biological Additives, Part 2: Septic Tank Effluent Quality and Overall Additive Efficacy." *Journal of Environmental Health* 74 (5): 22–28 7p.
- Rozzi, Alberto, and Enrico Remigi. 2004. "Methods of Assessing Microbial Activity and Inhibition under Anaerobic Conditions: A Literature Review." *Re/Views in Environmental Science & Bio/Technology* 3 (2): 93–115. doi:10.1007/s11157-004-5762-z.
- Scow, K.M. 1994. "The Efficacy and Environmental Impact of Biological Additives to Septic Systems (Unpublished Manuscript)." University of California, Davis. Available from the National Small Flows Clearinghouse, West Virginia University, Morgantown, WV, (800) 624-8301.
- Sinbuathong, Nusara, Sutha Khaodhiar, Winai Liengcharernsit, Pramote Sirirrote, and Daniel Watts. 2007. "Effect of Sulfate on the Methanogenic Activity of a Bacterial Culture from a Brewery Wastewater during Glucose Degradation." *Journal of Environmental Sciences* 19 (9): 1025–27. doi:10.1016/S1001-0742(07)60166-1.
- Souto, Tatiana F., Sérgio F. Aquino, Silvana Q. Silva, and Carlos A. L. Chernicharo. 2009. "Influence of Incubation Conditions on the Specific Methanogenic Activity Test." *Biodegradation* 21 (3): 411–24. doi:10.1007/s10532-009-9311-x.

- Strömberg, Sten, Mihaela Nistor, and Jing Liu. 2014. "Towards Eliminating Systematic Errors Caused by the Experimental Conditions in Biochemical Methane Potential (BMP) Tests." *Waste Management* 34 (11): 1939–48. doi:10.1016/j.wasman.2014.07.018.
- Sunwanee, Jijai, Srisuwan Galaya, O-thong Sompong, Ismail Norli, and Siripatana Chairat. 2014. "Specific Methanogenic Activities (SMA) and Biogas Production of Different Granules Size and Substrates." *The 1st Environment and Natural Resources International Conference*, November.
- USEPA. 2002. *Onsite Wastewater Treatment Systems Manual*. Vol. Septic Tank Additives.
- Viraraghavan, T. 1988. "Discussion of 'Wastewater Induced Soil Clogging Development' by Robert L. Siegrist and William C. Boyle (June 1987, Vol. 113, No. 3)." *Journal of Environmental Engineering* 114 (5): 1250–1250. doi:10.1061/(ASCE)0733-9372(1988)114:5(1250.2).

VIII. ANNEXES

Annexe 1 : Explications des méthodes de mesure de biogaz

Automatic Methane Potential Test System - AMPTS

Fabriqué par Bioprocess Control (Suède), ce système de test est commercialisé depuis juillet 2009. Jusqu'à 15 bouteilles de 500mL peuvent être utilisées simultanément. La mesure de gaz est effectuée selon le principe de déplacement de liquide. Le volume de gaz (biogaz ou méthane) ainsi que le débit sont automatiquement enregistrés au cours de l'expérience. Ces données peuvent être exportées sur Excel.

Ce système de test est simple à monter et nécessite peu de maintien pendant l'exploitation.

Figure A14: AMPTS



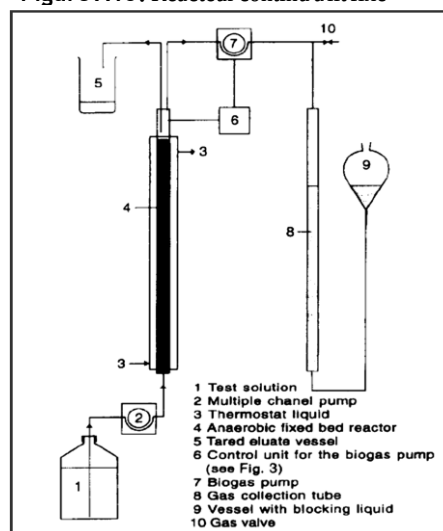
BCS-CH4 biogas

Fabriqué par BlueSens-gas sensor GmbH (Allemagne), ce système de test permet la saisie automatique de la production de méthane en temps réel. BSC-CH4 biogas est équipé de cuves de taille variable (min. 500mL), de senseurs de gaz infrarouge commandés par microprocesseur, de compteurs de volume de précision et d'un logiciel BACVis pour la saisie de données. Des compteurs de volume de précision MilliGascounter® sont utilisés. Ces derniers fonctionnent à l'aide d'un axe basculant, où le nombre de basculements permet de connaître le volume du gaz. La précision de la mesure est de 1mL.

Continuous fixed-bed reactor, EMPA

L'EMPA (laboratoire pour l'essai des matériaux de construction) a proposé en 1996 un réacteur continu à lit fixe pour déterminer la biodégradabilité anaérobie des substances solubles et des eaux usées. Le réacteur consiste en un tube chargé d'un tissu trompé dans une boue anaérobie. Le gaz s'accumule dans un premier temps en haut de la colonne ; quand la pression atteint un certain seuil, le gaz est conduit dans un tube de mesure rempli d'hydroxyde de sodium pour l'absorption du dioxyde de carbone. La hauteur de la solution est proportionnelle au volume de gaz produit. Le système est illustré à la figure a15.

Figure A15: Réacteur continu à lit fixe



OxiTop

Le système OxiTop® Control de l'entreprise WTW permet la détermination de la biodégradabilité basée sur la mesure de la DBO (Demande Biochimique en Oxygène). Il consiste en 6 ou 12 flacons, des têtes de mesure OxiTop®-C, le système d'agitation Inductif Stirring et un contrôleur OxiTop® Controller OC110. La mesure fonctionne selon le principe respirométrique basé sur une mesure manométrique. La saisie et l'enregistrement des valeurs de mesure s'effectuent dans la tête de mesure. Ces données sont transmises sans fil au contrôleur, par infrarouges, et sont dépouillées en une valeur DBO. Ce système de mesure est fréquemment utilisé dans les laboratoires pour l'analyse des eaux usées. Comme la mesure est manométrique on peut aussi utiliser le système pour la mesure d'une production de gaz au lieu d'une consommation comme pour l'analyse de la DBO.

Eudiomètre (pour mesure du volume de gaz uniquement)

L'eudiomètre est un tube en verre gradué mesurant la variation de volume d'un mélange gazeux suite au déplacement d'un liquide (solution barrière). Selon l'utilisation, l'appareil peut prendre des formes variées.

En général, il a une forme similaire à une éprouvette scellée à l'extrémité supérieure et dont l'autre extrémité est immergée dans la solution barrière. Le liquide emprisonne un échantillon de gaz dans le tube et la graduation permet la mesure du volume de gaz.

Un eudiomètre adapté aux tests de biodégradation anaérobie est fabriqué par la TUHH (Technische Universität Hamburg - Harburg).

Autres

D'autres systèmes de test ont été recensés dans la littérature, comme le ORI-Biogasomat de Ori Wassertechnik GmbH & Co ou le Sensomat de Aqualytic. Ces appareils ne sont plus disponibles sur le marché (raisons inconnues) et ne sont par conséquent pas décrits ici.

Annexe 2 : Protocoles d'expériences (ST/SV)

La quantité de solides dégradés lors des expériences se fait par le calcul suivant :

$$\text{Solides totaux } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(A-B) \cdot 1000}{\text{volume d'échantillon (mL)}}$$

$$\text{Solides volatils } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{(A-C) \cdot 1000}{\text{volume d'échantillon (mL)}}$$

Avec A : la masse du résidu + récipient avant ignition (mg), B : la masse du récipient (mg) et C : la masse du résidu + récipient après ignition (mg).

Chaque coupelle en aluminium est pesée avec une balance de précision (à 0,0001g) (Figure 49) après avoir subi un traitement à 550°C pendant 2 heures au four à MVS (Figure 50). Ensuite les échantillons sont placés dans les coupelles en aluminium et séchés (Figure 52) au four à 105°C (Figure 51). Les échantillons sont pesés de nouveau et placés au four à 550°C pour l'étape d'ignition. Entre chaque étape les coupelles sont entreposées dans un dessiccateur afin d'éviter les erreurs de mesure (humidité, poussières, ...).



Figure 49 : Balance de précision.



Figure 50 : Four à 550°C.



Figure 51 : Four à 105°C.



Figure 52 : Coupelles après séchage à 105°C.

Annexe 3 : Matériel utilisé pour la DCO et mode opératoire

La demande chimique en oxygène a été réalisée, en accord avec la méthode vue ci-dessous, à l'aide du matériel suivant :

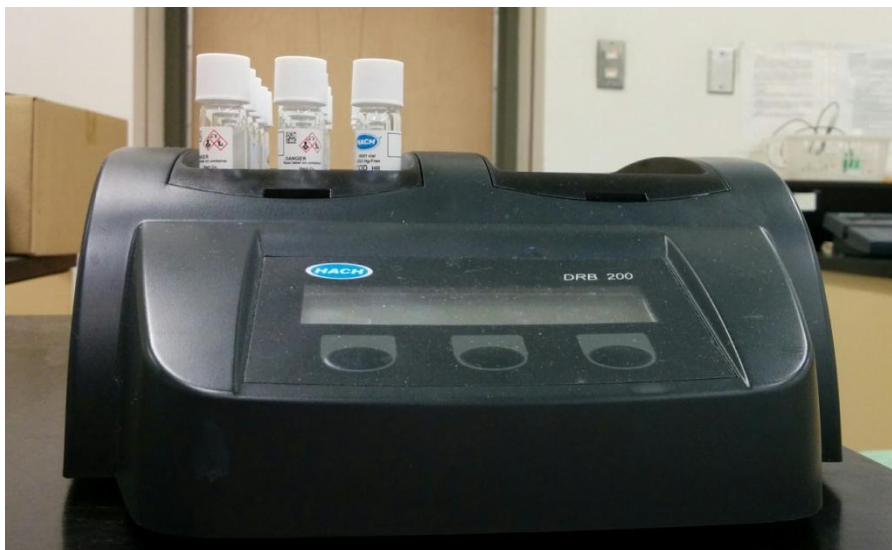


Figure 53 : Réacteur digital à DCO DRB 200™ (HACH).



Figure 54 : Tubes tests DCO après chauffage à 150°C pendant 2 heures.



Figure 55 : Spectrophotomètre UV-visible DR 5000™ (HACH).

Mode opératoire (selon Bachmann et al. 2011) :

Sécurité : Les tubes contiennent de l'acide sulfurique et des sels de mercure. Il faut donc les manipuler avec précaution, car leur contenu est toxique et corrosif.

- Allumer le réacteur DCO et préchauffer à 150°C.
- Préparer des tubes HACH contenant la solution de digestion pour DCO (gamme 0-1500mg/L) : un pour le blanc (eau déminéralisée) et deux pour chacun des traitements appliqués. Appliquer des dilutions si nécessaire. Dans le cas d'échantillons de bous de fosse septique, la dilution réalisée est comprise en général entre 1/20^{ème} et 1/50^{ème}.
- Tenir le tube légèrement incliné au-dessus d'un évier, dévisser le bouchon et pipeter 2mL d'eau déminéralisée ou d'échantillon.
- Fermer hermétiquement le bouchon, puis retourner le tube plusieurs fois en le tenant par le bouchon. Attention : le tube devient très chaud lors du mélange et il y a risque de surpression.
- Placer les tubes dans le réacteur DCO, puis démarrer le minuteur pour une durée de 2h, à 150°C.
- À la fin du chauffage, retourner plusieurs fois chaque tube pendant qu'il est encore chaud, puis placer les tubes sur un portoir métallique.
- Allumer le spectrophotomètre HACH DR 5000, puis entrer le numéro de programme pour la DCO et régler la longueur d'onde adéquate.
- Pour calibrer l'appareil, placer le tube d'essai correspondant au blanc dans le spectrophotomètre, et appuyer sur la touche ZERO.
- Placer successivement les différents tubes dans le spectrophotomètre comme précédemment, appuyer sur la touche READ/ENTER, puis lire le résultat qui s'affiche en mgDCO/L.
- Éteindre le réacteur DCO.

Expression des résultats

DCO en mg/L.

Oxygen Demand, Chemical

DOC316.53.01099

USEPA¹ Reactor Digestion Method²

Method 8000

0.7 to 40.0³ mg/L COD (ULR); 3 to 150 mg/L COD (LR); 20 to 1500 mg/L COD (HR); 200 to 15,000 mg/L COD (HR Plus)

Scope and application: For water and wastewater. Digestion is required.

¹ Ranges 3 to 150 mg/L COD and 20 to 1500 mg/L COD are USEPA approved for wastewater analyses (Standard Method 5220 D), Federal Register, April 21, 1980, 45(78), 26811-26812.

² Jirka, A.M.; Carter, M.J., Analytical Chemistry, 1975, 47(8), 1397.

³ The ULR is only available with spectrophotometers that can measure at a wavelength of 350 nm.



Test preparation

Instrument-specific information

Table 1 shows all of the instruments that have the program for this test. The table also shows adapter and light shield requirements for the instruments that use them.

To use the table, select an instrument, then read across to find the applicable information for this test.

Table 1 Instrument-specific information for test tubes

Instrument	Adapters	Light shield
DR 6000, DR 5000	—	—
DR 3900	—	LZV849
DR 3800, DR 2800, DR 2700	—	LZV646
DR 1900	9609900 (D ¹)	—
DR 900	4846400	Cover supplied with the instrument

¹ The D adapter is not available with all instrument versions.

Before starting

Install the instrument cap on the DR 900 cell holder before ZERO or READ is pushed.
DR 3900, DR 3800, DR 2800 and DR 2700: Install the light shield in Cell Compartment #2 before this test is started.
The reagent that is used in this test is corrosive and toxic. Use protection for eyes and skin and be prepared to flush any spills with running water.
The reagents that are used in this test contain mercury. Collect the reacted samples for proper disposal.
Review the Safety Data Sheets (MSDS/SDS) for the chemicals that are used. Use the recommended personal protective equipment.
Run one blank with each set of samples. Run all tests (the samples and the blank) with the same lot of vials. The lot number is on the container label. Refer to Blanks for colorimetric determination on page 4.
Store unused (light sensitive) vials in a closed box.
If the samples contain high concentrations of chloride, refer to the Alternate reagents section.
Dispose of reacted solutions according to local, state and federal regulations. Refer to the Safety Data Sheets for disposal information for unused reagents. Refer to the environmental, health and safety staff for your facility and/or local regulatory agencies for further disposal information.

Items to collect

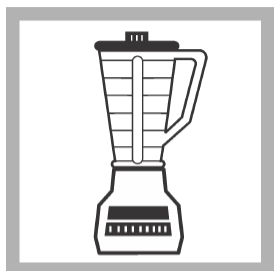
Description	Quantity
Beaker, 250-mL	1
Blender	1
COD Digestion Reagent vials	varies
DRB200 Reactor	1
Light shield or adapter (For information about sample cells, adapters or light shields, refer to Instrument-specific information on page 1.)	1
Magnetic stirrer and stir bar	1
Opaque shipping container for storage of unused, light-sensitive reagent vials	varies
Pipet, TenSette, 0.1- to 1.0-mL, with pipet tips (for use with the 200–15,000 mg/L range)	1
Pipet, volumetric, 2.00-mL	2
Pipet filler safety bulb	1
Test tube rack	2

Refer to [Consumables and replacement items](#) on page 7 for order information.

Sample collection and storage

- Collect samples in clean glass bottles. Use plastic bottles only if they are known to be free of organic contamination.
- Test biologically active samples as soon as possible.
- Homogenize samples that contain solids to get a representative sample.
- To preserve samples for later analysis, adjust the sample pH to less than 2 with concentrated sulfuric acid (approximately 2 mL per liter). No acid addition is necessary if the sample is tested immediately.
- Keep the preserved samples at 2–6 °C (36–43 °F) for a maximum of 28 days.
- Correct the test result for the dilution caused by the volume additions.

Reactor digestion procedure

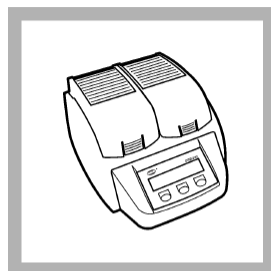


1. Put 100 mL of sample in a blender. Blend for 30 seconds or until homogenized.

For samples with large amounts of solids, increase the homogenization time. If the sample does not contain suspended solids, go to step 3.



2. For the 200–15,000 mg/L range or to improve accuracy and reproducibility of the other ranges, pour the homogenized sample into a 250-mL beaker and gently stir with a magnetic stir plate.



3. Set the DRB200 Reactor power to on. Preheat to 150 °C.

Refer to the DRB200 User Manual for selecting pre-programmed temperature applications.



4. Prepare the sample:

Remove the cap from a vial for the selected range. Hold the vial at an angle of 45 degrees. Use a clean pipet to add 2.00 mL of sample to the vial.

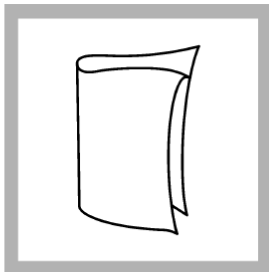
For 250–15,000 mg/L vials: Use a TenSette Pipet to add 0.20 mL of sample to the vial.



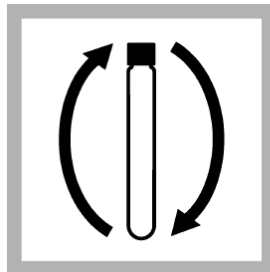
5. Prepare the blank:

Remove the cap from a second vial for the selected range. Hold the vial at an angle of 45 degrees. Use a clean pipet to add 2.00 mL of deionized water to the vial.

For 250–15,000 mg/L vials:
Use a TenSette Pipet to add 0.20 mL of deionized water to the vial.



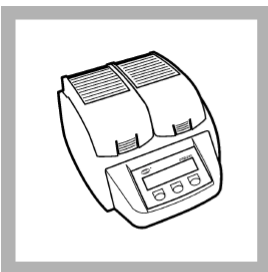
6. Close the vials tightly. Rinse the vials with water and wipe with a clean paper towel.



7. Hold the vials by the cap, over a sink. Invert gently several times to mix.
The vials get very hot during mixing.



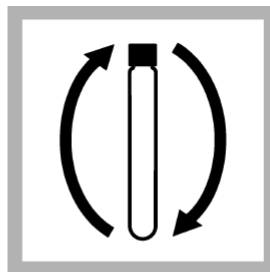
8. Put the vials in the preheated DRB200 reactor. Close the lid.



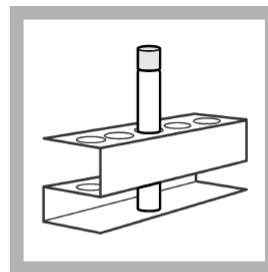
9. Heat the vials for 2 hours.



10. Set the reactor power to off. Let the vials cool in the reactor for approximately 20 minutes to 120 °C or less.

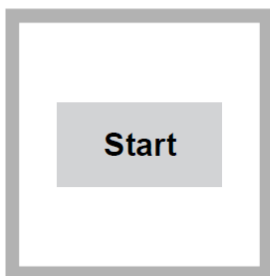


11. Invert each vial several times while it is still warm.



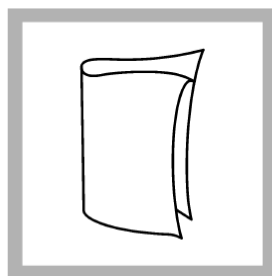
12. Put the vials in a tube rack to cool to room temperature.

Colorimetric procedure

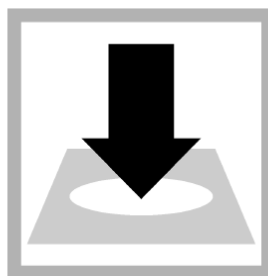


1. Start program **431 COD ULR**, **430 COD LR** or **435 COD HR**. For information about sample cells, adapters or light shields, refer to [Instrument-specific information](#) on page 1.

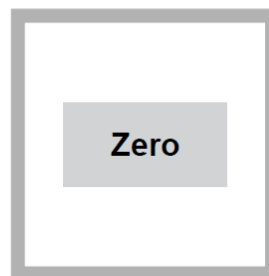
Note: Although the program name can be different between instruments, the program number does not change.



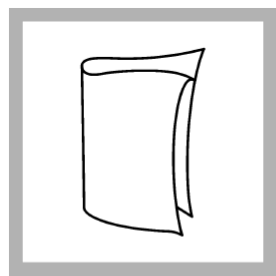
2. Clean the blank sample cell.



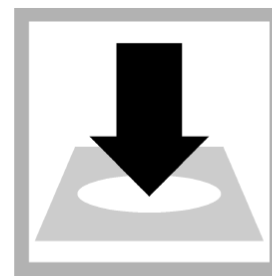
3. Insert the blank into the cell holder.



4. Push **ZERO**. The display shows 0 or 0.0 mg/L COD.



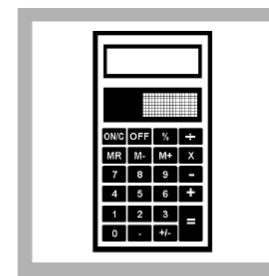
5. Clean the prepared sample cell.



6. Insert the prepared sample into the cell holder.



7. Push **READ**. Results show in mg/L COD.



8. If using High Range Plus COD digestion reagent vials, multiply the result by 10. For the most accurate results with samples near 1500 or 15,000 mg/L COD, repeat the analysis with a diluted sample.

Blanks for colorimetric determination

The blank vial can be used again and again for measurements that use the same lot of reagent vials. Measure the absorbance of the blank vial over time and prepare a new blank vial when the absorbance changes.

1. Put the instrument in the absorbance mode at the applicable wavelength. Refer to [Table 3](#) on page 7.
2. Add 5 mL of deionized water into an empty vial.
3. Put the vial in the instrument and zero the instrument.
4. Put the blank vial that is used in the test procedure into the instrument and record the absorbance value.
5. Keep the blank vial in the dark.
6. Prepare a new blank when the absorbance has changed by approximately 0.01 absorbance units.

Interferences

Chloride is the primary interference in this test procedure. Each COD vial contains mercuric sulfate that removes chloride interference to the level specified in Column 1 of Table 2. Dilute samples that have higher chloride concentrations to the level given in Column 2.

Note: For best results, use the low range and ultra-low range vials for samples that have high chloride concentrations (near maximum concentration) and low COD concentrations.

If sample dilution causes the COD concentration to be too low for accurate measurements, add 0.50 g of mercuric sulfate (HgSO_4) to each COD vial before the sample is added. The additional mercuric sulfate will increase the maximum chloride concentration to the level given in Column 3.

Note: Bromide interference is not removed with mercuric sulfate.

Table 2 Chloride concentration limits in the sample

Vial range	Column 1 (maximum mg/L Cl^-)	Column 2 (mg/L Cl^- for diluted samples)	Column 3 (maximum mg/L Cl^- with mercuric sulfate)
ULR ¹ (0.7–40.0 mg/L)	2000	1000	N/A
LR (3–150 mg/L)	2000	1000	8000
HR (20–1500 mg/L)	2000	1000	4000
HR Plus (200–15,000 mg/L)	20,000	10,000	40,000

¹ The ULR is only available for spectrophotometers that can measure at a wavelength of 350 nm.

Accuracy check

Standard solution method

Items to collect:

- 1000 mg/L COD standard solution
- 100-mL volumetric flask, Class A
- Volumetric pipets, Class A and pipet filler
- Deionized water
- Potassium acid phthalate (KHP), dried overnight at 120 °C (HR Plus only)

0.7 to 40.0 mg/L ULR

1. Prepare a 30-mg/L COD standard solution as follows:
 - a. Use a pipet to add 3.00 mL of the 1000 mg/L standard solution into a 100-mL volumetric flask.
 - b. Dilute to the mark with deionized water. Mix well.
2. Use the test procedure to measure the concentration of the standard solution.
3. Compare the expected result to the actual result.

Note: The factory calibration can be adjusted slightly with the standard adjust option so that the instrument shows the expected value of the standard solution. The adjusted calibration is then used for all test results. This adjustment can increase the test accuracy when there are slight variations in the reagents or instruments.

3 to 150 mg/L LR

1. Prepare a 100-mg/L COD standard solution as follows:
 - a. Use a pipet to add 10 mL of the 1000 mg/L standard solution into a 100-mL volumetric flask.
 - b. Dilute to the mark with deionized water. Mix well.
2. Use the test procedure to measure the concentration of the standard solution.
3. Compare the expected result to the actual result.

Note: The factory calibration can be adjusted slightly with the standard adjust option so that the instrument shows the expected value of the standard solution. The adjusted calibration is then used for all test results. This adjustment can increase the test accuracy when there are slight variations in the reagents or instruments.

20 to 1500 mg/L HR

1. Use the test procedure with a 300-mg/L, 800 mg/L or 1000 mg/L COD standard solution to measure the concentration of the standard solution.
2. Compare the expected result to the actual result.

Note: The factory calibration can be adjusted slightly with the standard adjust option so that the instrument shows the expected value of the standard solution. The adjusted calibration is then used for all test results. This adjustment can increase the test accuracy when there are slight variations in the reagents or instruments.

200 to 15,000 mg/L HR Plus

1. Prepare a 10,000 mg/L COD standard solution as follows:
 - a. Dissolve 8.500 g of dried KHP in 1000-mL of organic-free deionized water.
2. Use the test procedure to measure the concentration of the standard solution.
3. Compare the expected result to the actual result.

Note: The factory calibration can be adjusted slightly with the standard adjust option so that the instrument shows the expected value of the standard solution. The adjusted calibration is then used for all test results. This adjustment can increase the test accuracy when there are slight variations in the reagents or instruments.

Alternate reagents

Mercury-free COD2 Reagents are available as a mercury-free alternative. These reagents are fully compatible with test procedures and stored programs in the instruments. Chloride and ammonia determinations are recommended for accurate results.

NOTICE

COD2 reagents are not approved for USEPA reporting purposes. Because COD2 reagents do not contain mercury as a masking agent, they exhibit a positive interference from chloride. More information is available for use with specific applications.

Method performance

The method performance data that follows was derived from laboratory tests that were measured on a spectrophotometer during ideal test conditions. Users can get different results under different test conditions.

Program	Standard	Precision (95% Confidence Interval)	Sensitivity Concentration change per 0.010 Abs change
431 (ULR)	30 mg/L COD	28.8–31.2 mg/L COD	0.5 mg/L COD
430 (LR)	80 mg/L COD	77–83 mg/L COD	3 mg/L COD
435 (HR)	800 mg/L COD	785–815 mg/L COD	23 mg/L COD
435 (HR Plus)	8000 mg/L COD	7850–8150 mg/L COD	230 mg/L COD

Summary of method

The results in mg/L COD are defined as the milligrams of O₂ consumed per liter of sample under the conditions of this procedure. The sample is heated for 2 hours with sulfuric acid and a strong oxidizing agent, potassium dichromate. Oxidizable organic compounds react, reducing the dichromate ion (Cr₂O₇²⁻) to green chromic ion (Cr³⁺). When the 0.7–40.0 or the 3–150 mg/L colorimetric method is used, the amount of Cr⁶⁺ that remains is measured. When the 20–1500 mg/L or 200–15,000 mg/L colorimetric method is used, the amount of Cr³⁺ that is produced is measured. The COD reagent also contains silver and mercury ions. Silver is a catalyst, and mercury is used to complex chloride interferences.

Test results are measured at the wavelengths that are specified in [Table 3](#).

Table 3 Range-specific test wavelengths

Range in mg/L COD	Wavelength
0.7–40.0 mg/L	350 nm (for applicable instruments)
3–150 mg/L	420 nm
20–1500	620 nm (610 nm for colorimeters)
200–15,000 mg/L	620 nm (610 nm for colorimeters)

Pollution prevention and waste management

Reacted samples contain mercury, silver and chromium and must be disposed of as a hazardous waste. Dispose of reacted solutions according to local, state and federal regulations. Users in the United States can use the ez COD Recycling Service for disposal of COD vials. Refer to [Consumables and replacement items](#) on page 7.

Consumables and replacement items

Required reagents

Description	Quantity/test	Unit	Item no.
COD, Ultra Low Range, 0.7–40 mg/L	1–2 vials	25/pkg	2415825
COD, Low Range, 3–150 mg/L	1–2 vials	25/pkg	2125825
COD, High Range, 20–1500 mg/L	1–2 vials	25/pkg	2125925
COD, High Range Plus, 200–15,000 mg/L	1–2 vials	25/pkg	2415925
Water, deionized	varies	4 L	27256

Alternate reagents and package sizes

Description	Quantity/test	Unit	Item no.
COD2, Low Range, 0–150 mg/L COD	1–2 vials	25/pkg	2565025
COD2, High Range, 0–1500 mg/L COD	1–2 vials	25/pkg	2565125
COD2, High Range, 0–1500 mg/L COD	1–2 vials	150/pkg	2565115
COD2, High Range Plus, 0–15,000 mg/L COD	1–2 vials	25/pkg	2834325
COD Digestion Reagent Vials, 3–150 mg/L COD	1–2 vials	150/pkg	2125815
COD Digestion Reagent Vials, 200–1500 mg/L COD	1–2 vials	150/pkg	2125915
COD Digestion Reagent Vials, ULR 0.7–40.0 mg/L	1–2 vials	150/pkg	2415815
COD Digestion Reagent Vials, HR plus, 200–25,000 mg/L	1–2 vials	150/pkg	2415915

Required apparatus

Description	Quantity/test	Unit	Item no.
Blender, 2-speed, 120 VAC option	1	each	2616100
OR			
Blender, 2-speed, 240 VAC option	1	each	2616102
DRB 200 Reactor, 110 VAC option, 15 x 16-mm wells	1	each	LTV082.53.40001
OR			
DRB 200 Reactor, 220 VAC option, 15 x 16-mm wells	1	each	LTV082.52.40001
Pipet filler, safety bulb	1	each	1465100
Pipet, volumetric, Class A, 2.00-mL	1	each	1451536

Recommended standards and apparatus

Description	Unit	Item no.
Beaker, 250-mL	each	50046H
COD Standard Solution, 300-mg/L	200 mL	1218629
COD Standard Solution, 300-mg/L	500mL	1218649
COD Standard Solution, 800-mg/L	200 mL	2672629
COD Standard Solution, 1000-mg/L	200 mL	2253929
Oxygen Demand Standard (BOD, COD, TOC), 10-mL ampules	16/pkg	2833510
Pipet, TenSette [®] , 0.1–1.0 mL	each	1970001
Pipet tips for TenSette [®] Pipet, 0.1–1.0 mL	50/pkg	2185696
Pipet tips for TenSette [®] Pipet, 0.1–1.0 mL	1000/pkg	2185628
Potassium Acid Phthalate (KHP), ACS	500 g	31534
Stir bar, octagonal	each	2095352
Stirrer, electromagnetic, 120 VAC, with electrode stand	each	4530001
Stirrer, electromagnetic, 230 VAC, with electrode stand	each	4530002
Test tube rack, stainless steel	each	1864100
Wipes, disposable	70/pkg	2096900

Optional reagents and apparatus

Description	Unit	Item no.
Balance, analytical, 80 g x 0.1 mg 100–240 VAC	each	2936701
Flask, volumetric, Class A, 1000-mL glass	each	1457453
Flask, volumetric, Class A, 100-mL glass	each	1457442
Mercuric Sulfate	28 g	191520
Pipet, volumetric, Class A, 3-mL	each	1451503
Pipet, volumetric, Class A, 10-mL	each	1451538
Sulfuric Acid, ACS	500 mL	97949
Wastewater Influent Standard Solution, Mixed Parameter, for NH ₃ -N, NO ₃ -N, PO ₄ , COD, SO ₄ , TOC	500 mL	2833149

EZ COD™ Recycling Service with 5-gal bucket-mail back option (For US customers only. 20 and 55 gallon sizes are also available.)	each	2895405
EZ COD™ Recycling Service with 5-gal bucket- pick up option. (For US customers only. 20 and 55 gallon sizes are also available.)	each	2895405P
Finger cots	2/pkg	1464702
Gloves, chemical resistant, size 9–9.5	pair	2410104 ¹
Paper, for weighing, 100 x 100 mm	500/pkg	1473885
Safety goggles, vented	each	2550700
Wastewater Effluent Standard Solution, Mixed Parameter, for NH ₃ -N, NO ₃ -N, PO ₄ ³⁻ , COD, SO ₄ ²⁻ , TOC	500 mL	2833249

¹ Other sizes available



FOR TECHNICAL ASSISTANCE, PRICE INFORMATION AND ORDERING:
 In the U.S.A. – Call toll-free 800-227-4224
 Outside the U.S.A. – Contact the HACH office or distributor serving you.
 On the Worldwide Web – www.hach.com; E-mail – techhelp@hach.com

HACH COMPANY
 WORLD HEADQUARTERS
 Telephone: (970) 669-3050
 FAX: (970) 669-2932

© Hach Company/Hach Lange GmbH, 1989–2014. All rights reserved.

10/2014, Edition 10

Annexe 5 : Protocole de filtration sur membrane (coliformes fécaux)

Le dénombrement des coliformes fécaux a été réalisé avec la méthode décrite par (Ayres & Mara 1996) et avec le matériel suivant :

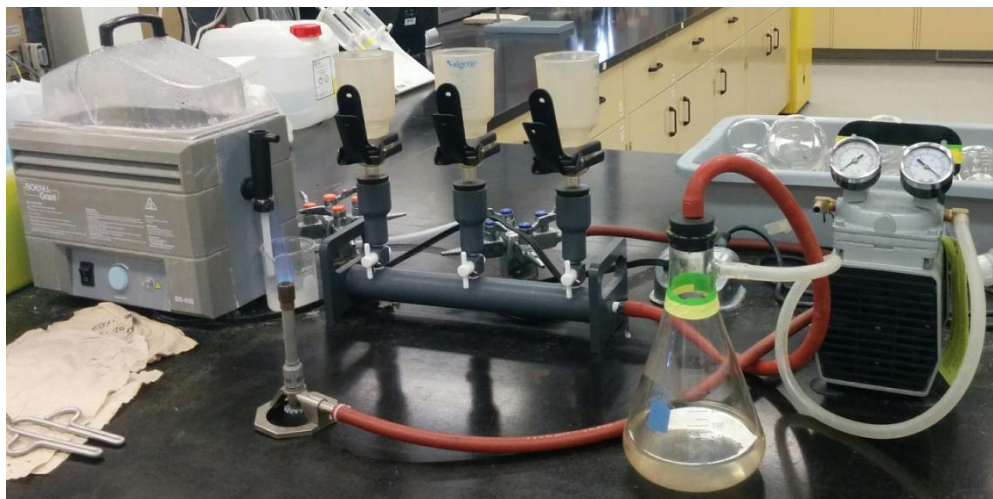


Figure 56 : Système de filtration.



Figure 57 : Boîte de Pétri avec de la gélose nutritive (MLSB).



Figure 58 : Coliformes fécaux sur boîtes de Pétri après incubation à 44°C.

Les boîtes de Pétri contenant du milieu nutritif MLSB (Membrane Lauryl Sulfate Broth) (cf. Figure 57) sont incubées à 44°C pendant 24h avec les membranes de filtration 0,45µm, sur lesquelles les colonies de bactéries vont se développer. Chaque colonie jaune (*i.e.* coliformes fécaux) est la représentation d'une bactérie qui s'est développée pour former une colonie, d'où l'unité UFC (Unité Formant Colonie). Ces colonies sont de couleur jaune car elles produisent de l'acide lactique acidifiant le milieu contenant un indicateur coloré rouge (rouge de phénol) virant au jaune en cas de baisse de pH. Dans ce contexte, le comptage des colonies prend en considération seulement les colonies jaunes qui se sont développées sur les boîtes de Pétri. Chaque filtration est réalisée en triplicata selon les principes de la méthode (cf. Figure 58).

Annexe 6 : Matériel Oxitop® et la loi de Boyle-Mariotte

La mesure de la production du méthane a été réalisée par la méthode manométrique Oxitop® :



Figure 59 : Matériel Oxitop®.

Le volume désiré d'échantillon est placé dans les bouteilles puis, la tête de mesure est placée et serrée fermement pour garder un milieu fermé hermétiquement aux gaz. Une pastille de NaOH est placée dans la nacelle se trouvant en dessous de la tête de mesure, pour le captage du CO₂. Ensuite, les bouteilles sont placées à 35°C pour incubation. L'enregistrement de la pression se fait au niveau de la tête de mesure, puis la récolte de données se fait par infrarouges à l'aide de la télécommande. L'exploitation des données peut être faite à l'aide d'un logiciel de type Excel®. La pression mesurée peut ainsi être retranscrite en volume grâce à la loi des gaz de Boyle-Mariotte (à température constante, le volume occupé par une certaine quantité de gaz est inversement proportionnel à sa pression) :

$$(P_i + \Delta P) \cdot V_f = P_i \cdot V_i$$

Avec : P_i la pression initiale dans la bouteille, supposée être la pression atmosphérique (Pa), ΔP la pression créée dans l'enceinte de la bouteille (Pa), V_i le volume de l'espace de tête dans la bouteille (mL) et V_f le volume de l'espace de tête plus celui du gaz créé (mL), en l'occurrence ici le CH₄.



Figure 60 : Incubateur à DBO VWR™.

Annexe 7 : Protocole de test BMP utilisé



12/11/2013

Standard Operation Procedure – Serum bottle test, NaOH solution displacement method

1. Scope and Field of Application

The serum bottle test is a simple and inexpensive technique used to determine the biodegradability and the toxicity of material undergoing anaerobic treatment.

2. Principle

The serum bottle is a 250 ml glass vial with a screw-on cap. The anaerobic sludge is placed in the vial together with the substrate to degrade and the nutrient and mineral solution to provide the necessary micronutrients such as trace metals, amino acids etc. The serum bottle is then kept at a constant temperature of about 35°C for a few days using a water bath. As the substrate is degraded, biogas is produced which consists of carbon dioxide and methane. This increase in the biogas causes a pressure buildup in the vial which needs to be measured and then vented periodically.

The method used to collect the biogas is a NaOH solution displacement method. The biogas is collected by attaching one end of a pipe to the serum bottle in which the anaerobic digestion is taking place and the other end to the serum bottle filled with sodium hydroxide solution. While the biogas collects, the NaOH solution absorbs the CO₂ produced and solution is displaced into volumetric cylinders which is a measurement of the amount of methane produced.

3. Interferences

If the bottles are not sealed tightly enough there may be gas leaks. Therefore it is useful to use soapy water to check for leaks.

4. Sampling

- Preferably collect samples in glass bottles
- Samples should be kept in the cold room when not being used

5. Safety Precautions

- Always use safety goggles, gloves and laboratory coat while working in laboratory
- Ensure that racks are sturdy
- After the experiment clean bottles and beakers with water then dry
- Ensure that wastes are disposed of according to standard disposal methods
- Dispose the used gloves after completion of analysis
- Clean hands using antiseptic soap
- Avoid spillage and contact with skin. In the latter case use copious washings with cold water and call for medical attention.

6. Apparatus

- Water bath
- Temperature regulator
- Racks to place inside water bath
- 24 serum bottles
- Serum bottle holder
- 12 volumetric cylinders



Figure 61: Serum Bottle setup including webcams for gas production observation



Figure 62: NaOH solution displacement

7. Procedure

1. Ensure that water bath is filled to the correct level and temperature regulator is set at 35°C
2. Incubate sludge and feed sample in water bath for 24 hours
3. Clamp volumetric cylinders to holder at bottom of stand
4. Attach webcams to a stand
5. Leak test all serum bottles and pipe connections (water may be used)
6. Fill serum bottles with NaOH solution
7. Fill serum bottles with sludge, substrate/feed allocating blanks and test bottles.
8. Attach the pipe connection between the two serum bottles.
9. Flush with nitrogen
10. Place serum bottles with sludge in metal rack in water bath
11. Place inverted serum bottles with NaOH solution in holders on top of volumetric cylinders.
12. Record volume of gas by measuring amount of NaOH solution displaced at regular intervals
13. Analyse gas composition using gas chromatograph
14. Gas leak testing using soapy water should be conducted on a regular basis

Annexe 8 : Courbes Oxitop et volumes de CH₄ produits par les trois montages

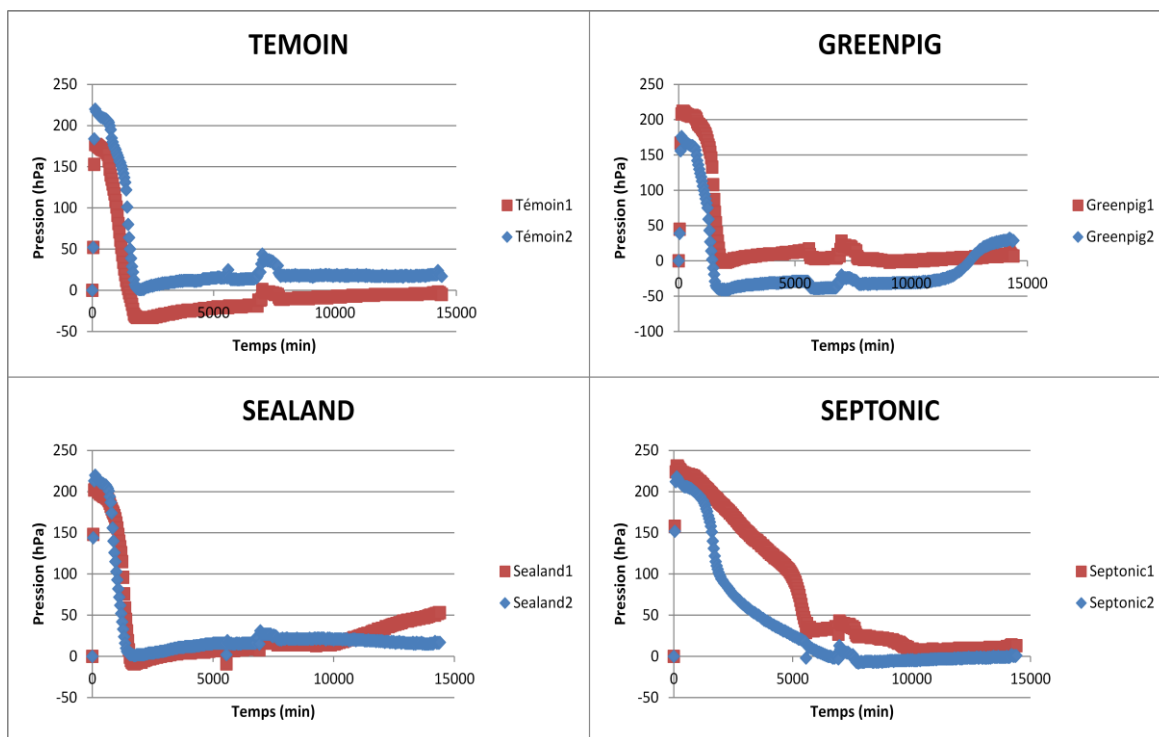


Figure 63 : Production de méthane pour l'essai 1 (60°C).

	Pression à t=5 jours		Pression à t=10 jours		Différentiel de pression			Volume de CH ₄		
Témoin 1	-3hPa		-5hPa		2hPa			0,5mL		
Témoin 2	-20hPa		17hPa		37hPa			9mL		
	Volume de CH ₄ à t=5 jours			Volume de CH ₄ à t=10 jours			Volume de CH ₄ sur 5 jours			
Montage BMP v.2	29mL	52mL	67mL	56mL	86mL	95mL	27mL	34mL	28mL	

Tableau 30 : Volume de CH₄ produit par le Témoin et par le BMP v.2 (essai 1).

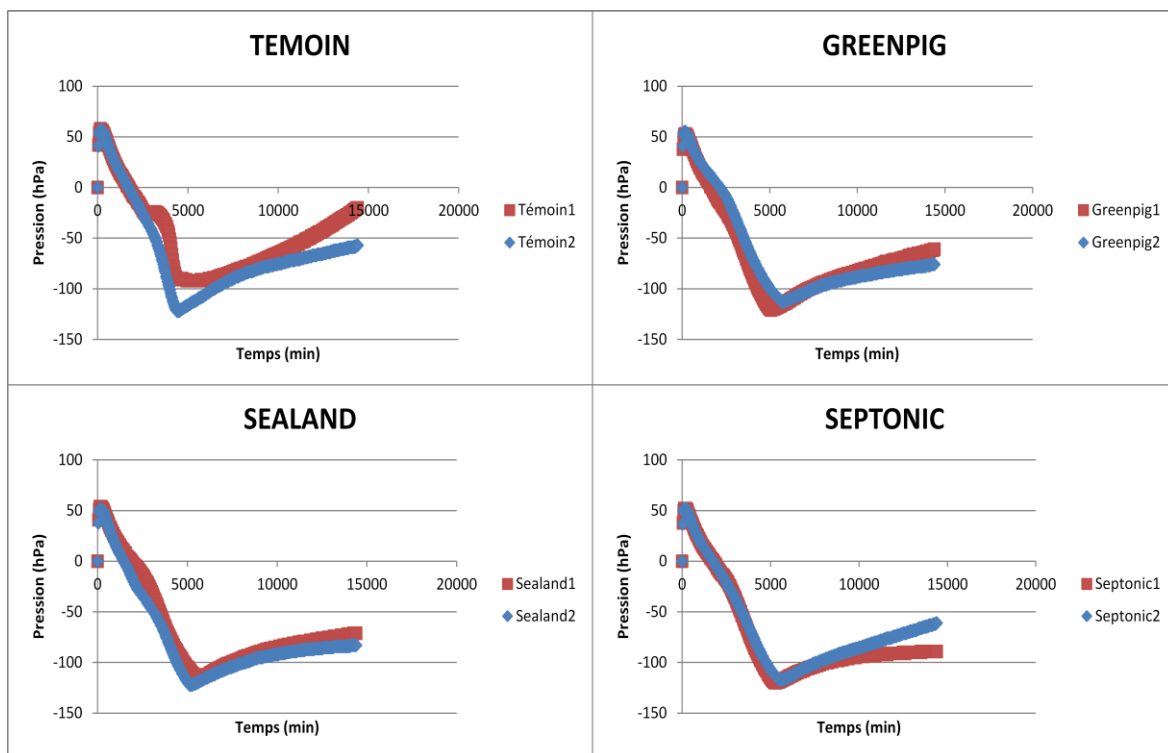


Figure 64 : Production de méthane pour l'essai 2.

	Pression à t=5 jours		Pression à t=10 jours		Différentiel de pression			Volume de CH ₄		
Témoins 1	-85hPa		-20hPa		65hPa			15,5mL		
Témoins 2	-93hPa		-57hPa		36hPa			8,82mL		
	Volume de CH ₄ à t=5 jours				Volume de CH ₄ à t=10 jours			Volume de CH ₄ sur 5 jours		
Montage BMP v.2	62mL	61mL	23mL	72mL	76mL	33mL	10mL	15mL	10mL	
Montage seringue	0mL	9mL	0mL	2mL	16mL	4mL	2mL	7mL	4mL	

Tableau 31 : Volume de CH₄ produit par le Témoins et par les montages expérimentaux (essai 2).

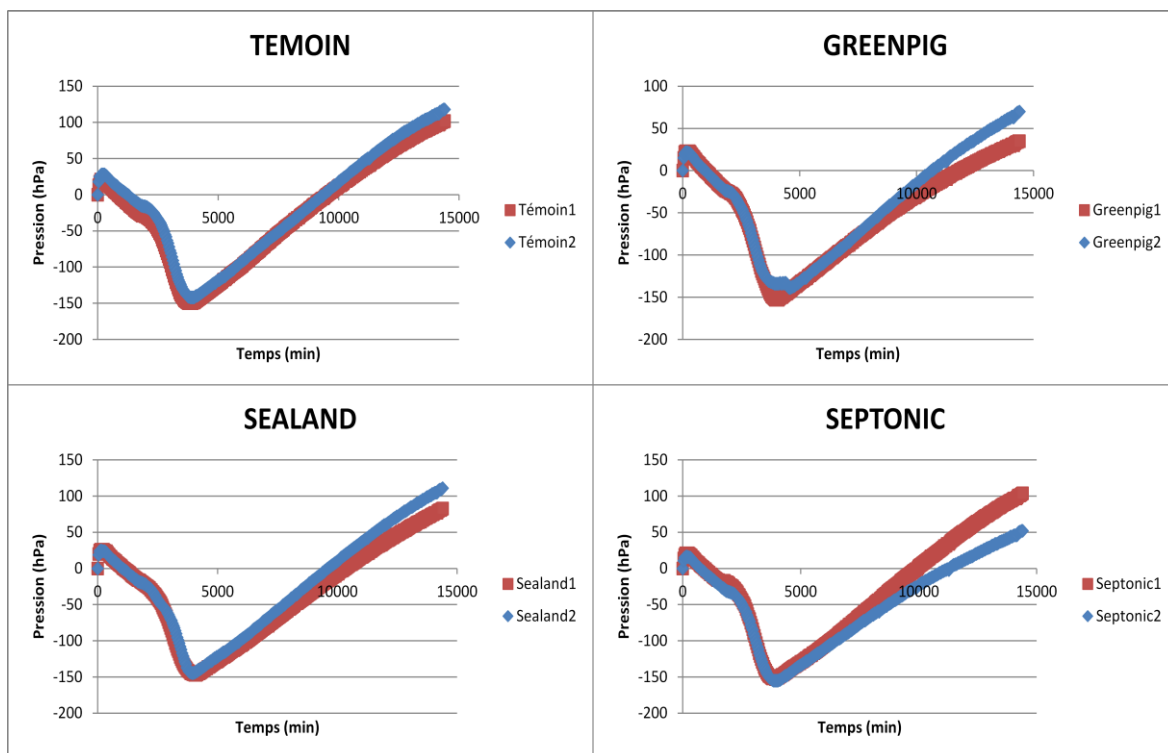


Figure 65 : Production de méthane pour l'essai 3.

	Pression à t=5 jours		Pression à t=10 jours		Différentiel de pression			Volume de CH ₄		
Témoin 1	-62hPa		102hPa		164hPa			36,8mL		
Témoin 2	-59hPa		118hPa		177hPa			38,2mL		
	Volume de CH ₄ à t=5 jours				Volume de CH ₄ à t=10 jours			Volume de CH ₄ sur 5 jours		
Montage BMP v.2	54mL	73mL	48mL	69mL	87mL	23mL	15mL	14mL	23mL	
Montage seringue	36mL	36mL	32mL	88mL	83mL	78mL	52mL	47mL	46mL	

Tableau 32 : Volume de CH₄ produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 3).

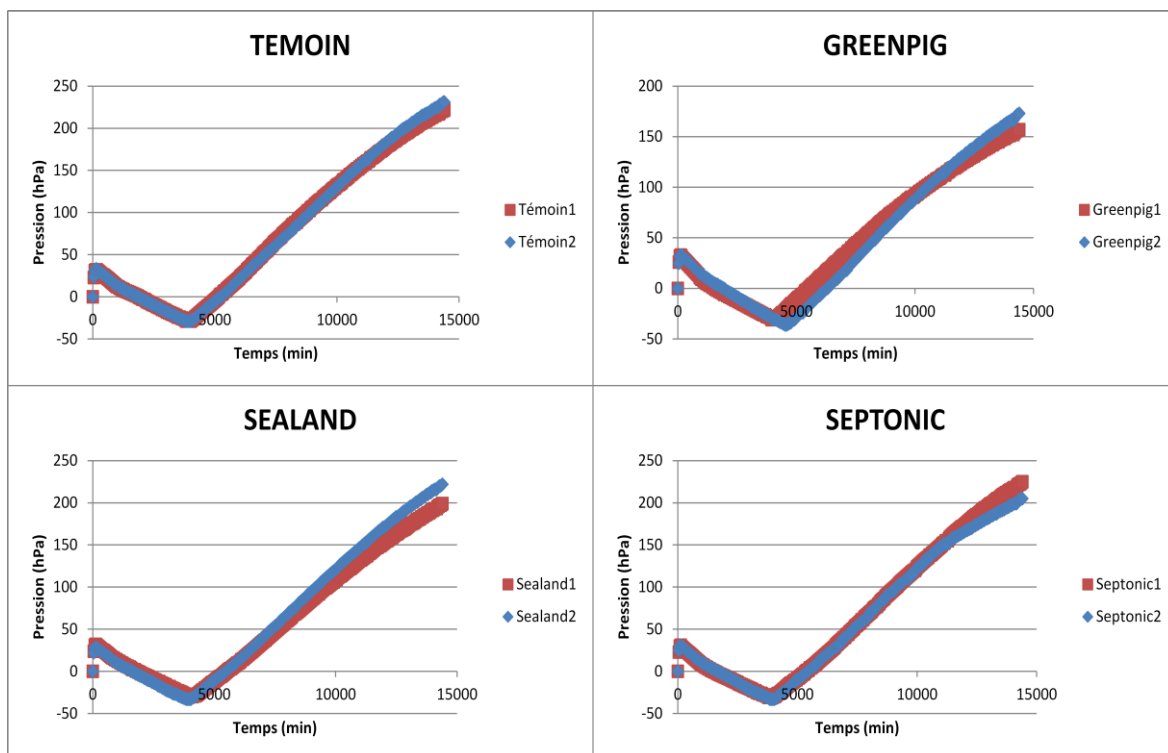


Figure 66 : Production de méthane pour l'essai 4.

	Pression à t=5 jours		Pression à t=10 jours		Différentiel de pression		Volume de CH ₄		
Témoin 1	58hPa		222hPa		164hPa		35,8mL		
Témoin 2	54hPa		231hPa		177hPa		38,2mL		
	Volume de CH ₄ à t=5 jours		Volume de CH ₄ à t=10 jours		Volume de CH ₄ sur 5 jours				
Montage BMP v.2	92mL	70mL	42mL	126mL	102mL	68mL	34mL	32mL	26mL
Montage seringue	7mL	15mL	15mL	24mL	37mL	33mL	17mL	22mL	18mL

Tableau 33 : Volume de CH₄ produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 4).

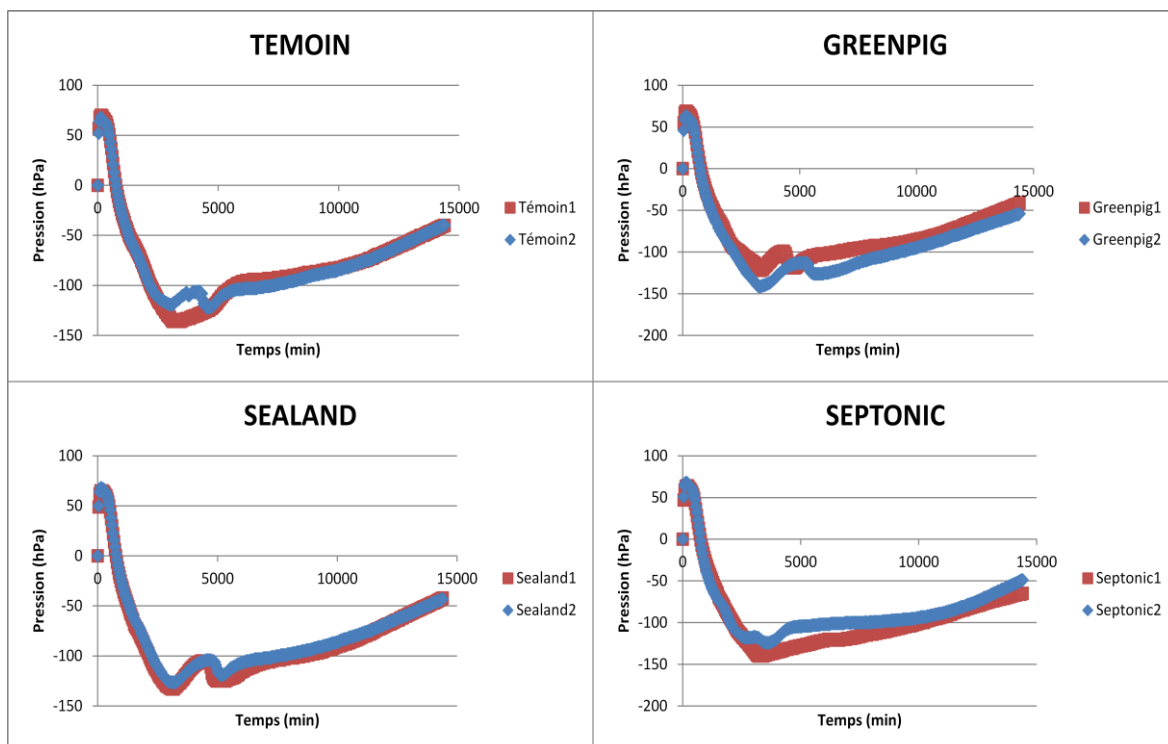


Figure 67 : Production de méthane pour l'essai 5.

	Pression à t=5 jours		Pression à t=10 jours		Différentiel de pression			Volume de CH ₄		
Témoins 1	-93hPa		-40hPa		53hPa			12,8mL		
Témoins 2	-100hPa		-40hPa		60hPa			15,4mL		
	Volume de CH ₄ à t=5 jours				Volume de CH ₄ à t=10 jours			Volume de CH ₄ sur 5 jours		
Montage BMP v.2	32mL	37mL	28mL	59mL	61mL	56mL	27mL	24mL	28mL	
Montage seringue	10mL	22mL	10mL	14mL	32mL	16mL	4mL	10mL	6mL	

Tableau 34 : Volume de CH₄ produit par le Témoins et par les montages expérimentaux (essai 5).

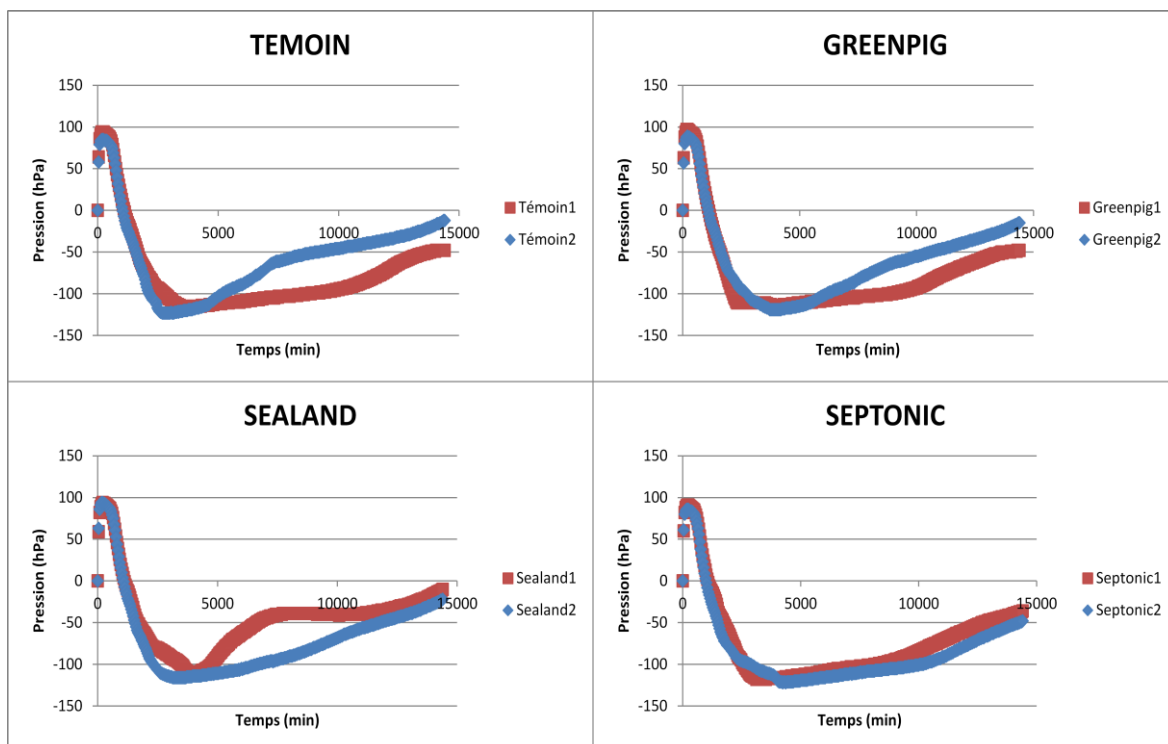


Figure 68 : Production de méthane pour l'essai 6.

	Pression à t=5 jours		Pression à t=10 jours		Différentiel de pression			Volume de CH ₄		
Témoin 1	-104hPa		-48hPa		56hPa			12,1mL		
Témoin 2	-64hPa		-12hPa		52hPa			11,5mL		
	Volume de CH ₄ à t=5 jours			Volume de CH ₄ à t=10 jours			Volume de CH ₄ sur 5 jours			
Montage BMP v.2	59mL	32mL	29mL	68mL	40mL	34mL	9mL	8mL	5mL	
Montage seringue	11mL	11mL	10mL	22mL	26mL	10mL	11mL	15mL	0mL	

Tableau 35 : Volume de CH₄ produit par le Témoin et par les montages expérimentaux (essai 6).

Annexe 9 : Résultats des expériences

Essai n°1

ST (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	29,85		26,48		31,36		25,78	
	25,13		32,01		35,88		37,54	
t=5	47,01	29,75	32,26	28,86	32,42	25,11	25,15	5,93
	42,25	40,56	27,34	26,30	36,8	21,90	24,70	6,84
t=10	34,61	32,75	30,86	31,65	30,04	31,37	5,05	4,86
	46,52	35,08	32,34	28,83	30,53	35,61	5,95	4,97

Tableau 36 : Solides totaux (essai 1).

SV (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	22,92		20,72		23,93		19,94	
	19,98		26,26		28,32		29,49	
t=5	38,31	24,35	25,35	21,89	26,42	19,32	20,01	4,17
	31,30	31,47	21,61	20,48	29,07	17,19	19,62	4,73
t=10	26,41	24,84	24,08	24,41	22,84	23,94	3,49	3,27
	37,79	27,08	24,27	21,76	23,06	27,06	3,96	3,40

Tableau 37 : Solides volatils (essai 1).

DCO (mg/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	28480		28660		15160		12860	
	28680		27740		14680		13260	
t=5	41440	34280	40100	33400	36900	25200	4800	22460
	39180	30300	38380	34320	37240	25320	4360	23620
t=10	30450	21600	30200	30400	41000	20350	6900	6650
	26150	23600	20750	34600	26750	22750	7000	9050

Tableau 38 : DCO (essai 1).

Log(UFC/100mL)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	7,46		7,59		7,54		7,46	
	7,40		7,49		7,54		7,58	
	7,57		7,48		7,49		7,49	
t=5	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
t=10	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 39 : Coliformes fécaux (essai 1).

Essai n°2

ST (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	6,79		5,79		6,97		5,51	
	6,39		5,64		5,52		1,2	
t=5	3,42	3,66	3,27	3,56	3,95	3,69	2,46	3,63
	3,78	3,68	3,58	3,34	3,35	3,68	2,8	3,7
t=10	3,77	3,34	3,3	3,44	3,07	2,9	3,19	3,61
	3,15	3,29	3,49	3,07	3,03	3,21	3,32	3,57

Tableau 40 : Solides totaux (essai 2).

SV (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	5,7		4,95		5,86		4,54	
	5,41		4,71		4,58		0,32	
t=5	2,69	2,75	2,51	2,73	3,08	2,84	1,83	2,79
	2,95	2,87	2,77	2,55	2,52	2,83	2,04	2,8
t=10	2,88	2,55	2,53	2,57	2,37	2,17	2,45	2,74
	2,38	2,53	2,7	2,33	2,33	2,41	2,53	2,75

Tableau 41 : Solides volatils (essai 2).

DCO (mg/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	9800		10150		9600		9400	
	10050		11150		8850		9950	
t=5	8650	10300	7900	8950	7650	7750	4950	7450
	8200	10300	7750	8400	7100	8000	4750	7850
t=10	6200	8750	6100	6900	7050	6300	8450	7150
	6700	8850	5750	6100	6050	5950	7750	7400

Tableau 42 : DCO (essai 2).

Log(UFC/100mL)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	6,48		6,45		6,41		6,46	
	6,54		6,34		6,40		6,43	
	6,51		6,52		6,46		6,46	
t=5	4,60	4,95	4,85	4,00	5,15	5,38	4,90	4,70
	5,04	4,95	5,18	4,48	4,85	5,40	5,08	4,48
	4,85	4,60	4,78	4,48	4,78	5,46	4,78	3,00
t=10	3,00	3,60	3,00	3,60	3,00	3,00	3,70	3,00
	3,48	3,00	3,70	3,48	3,30	3,00	3,30	3,30
	3,78	3,48	3,60	3,78	3,00	3,00	3,30	3,00

Tableau 43 : Coliformes fécaux (essai 2).

Essai n°3

ST (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	12,88	10,47	11,17	11,35	9,42	11,84	11,34	10,48
	9,04	11,31	11,83	12,12	11,46	11,38	12,02	11,92
t=5	9,92	10,02	10,39	11,49	10,83	9,13	9,37	10,53
	12,16	11,14	10,55	11,14	9,66	11,02	10,76	8,87
t=10	11,73	10,25	9,93	7,89	10,62	2,34	9,96	9,6
	9,01	8,5	9,19	8,98	11,14	8,75	9,63	10,37

Tableau 44 : Solides totaux (essai 3).

SV (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	9,75	7,81	8,31	8,52	7,09	8,86	8,57	7,79
	6,7	8,41	9	9,15	8,64	8,47	9,02	8,97
t=5	7,09	7,22	7,34	8,06	7,86	6,51	6,54	7,57
	8,9	8,12	7,61	7,98	6,79	7,9	7,67	6,12
t=10	8,25	7,2	6,83	5,25	7,46	6	6,88	6,54
	6,15	5,65	6,11	6,03	7,8	5,95	6,61	7,15

Tableau 45 : Solides volatils (essai 3).

DCO (mg/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	26700	19350	28850	21950	21000	22000	22150	20950
	27250	18150	29700	22250	19500	21700	23000	20400
t=5	14850	11850	17500	16000	18150	18800	14900	15400
	15900	12150	17550	19550	17100	19450	15300	14750
t=10	12850	11850	16300	13600	15550	13350	12700	12100
	15800	11400	16750	15500	15200	13250	11150	14050

Tableau 46 : DCO (essai 3).

Log(UFC/100mL)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	6,65	6,52	6,69	6,54	6,43	6,45	6,69	6,57
	6,64	6,48	6,67	6,61	6,45	6,48	6,58	6,41
	6,59	6,54	6,64	6,61	6,43	6,45	6,60	6,43
t=5	5,71	5,77	5,23	5,23	5,64	5,32	5,59	5,04
	5,69	5,79	5,41	5,11	5,63	5,36	5,57	4,95
	5,72	5,79	5,34	5,32	5,58	5,30	5,46	4,85
t=10	4,40	4,28	4,48	4,59	4,57	4,40	4,56	4,45
	4,34	4,20	4,38	4,53	4,58	4,38	4,53	4,53
	4,36	4,26	4,32	4,58	4,58	4,23	4,54	4,40

Tableau 47 : Coliformes fécaux (essai 3).

Essai n°4

ST (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	4,98	4,55	5,02	5,38	5,39	5,3	3,04	6,15
	6,01	5,46	4,69	6,05	6,98	5,59	6,46	4,88
t=5	4,94	4,53	5,05	5,05	5,01	5,41	4,52	4,47
	5,84	5,04	5,89	4,96	4,79	4,89	5,59	5,32
t=10	5,76	4,85	4,98	5,33	5,19	4,91	5,01	5,17
	4,12	4,8	5,44	5,3	5,2	4,99	5,06	5

Tableau 48 : Solides totaux (essai 4).

SV (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	3,74	3,29	4,23	3,89	3,86	3,78	2,17	4,8
	4,31	3,94	3,29	4,35	5,09	4	4,99	3,63
t=5	3,7	3,29	3,73	3,79	3,78	4,09	3,19	3,19
	4,31	3,48	3,29	4,35	3,54	3,62	4	3,78
t=10	3,58	2,94	3,06	3,37	3,08	3,71	3,76	3,62
	3,76	3,62	3,38	3,22	3,34	3,67	3,06	3,21

Tableau 49 : Solides volatils (essai 4).

DCO (mg/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	8125	7375	7400	8425	8425	8225	8650	6525
	8125	7450	8300	8300	9000	8175	8125	7200
t=5	6900	7250	6825	7450	7100	8250	7650	7650
	6950	6800	6075	7625	7950	7425	7725	6900
t=10	6825	7150	6750	6825	7700	7625	7675	7225
	6900	6850	6675	6775	7350	7925	7525	7575

Tableau 50 : DCO (essai 4).

Log(UFC/100mL)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	6,28	5,60	6,34	6,63	6,04	6,32	6,00	5,30
	6,58	6,11	6,66	6,66	5,60	6,28	5,60	5,30
	6,18	6,26	6,36	6,62	5,48	5,70	5,78	5,70
t=5	4,60	4,95	4,85	4,78	4,70	4,90	4,90	4,70
	4,90	4,95	4,95	4,85	4,85	5,08	5,08	4,48
	4,85	4,60	4,78	4,70	4,78	5,04	4,78	4,70
t=10	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 51 : Coliformes fécaux (essai 4).

Essai n°5

ST (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	6,44	7,5	5,89	7,72	6,95	7,04	8,56	6,6
	6,37	6,08	6,99	6,17	6,92	6,11	6,68	6,97
t=5	4,57	4,14	3,95	4,14	4,13	4,19	4,2	5
	4,04	4,28	6,67	4,6	6,17	4,8	6,1	5,29
t=10	4,1	3,94	4,18	4,45	4,22	4,36	4,6	4,19
	4,71	4,45	4,01	4,41	4,72	4,18	4,9	4,25

Tableau 52 : Solides totaux (essai 5).

SV (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	4,65	5,88	4,22	5,85	5,42	5,44	6,53	4,75
	4,76	4,49	5,42	4,45	5,13	4,52	4,96	4,89
t=5	3,53	3,11	2,89	2,98	2,76	3,09	2,86	3,7
	3,09	3,25	5,11	3,43	4,52	3,48	4,61	3,98
t=10	2,85	2,89	3,19	3,39	3,2	3,28	3,52	3,16
	3,45	3,26	3,02	3,32	3,56	3,08	3,71	3,19

Tableau 53 : Solides volatils (essai 5).

DCO (mg/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	9650	12100	10250	9500	10325	9950	10600	9850
	9750	10125	9775	9475	10950	10250	9950	9300
t=5	9425	10050	8675	9700	9400	9225	9525	10850
	9625	9950	8975	9450	9450	9525	9375	9700
t=10	7750	8650	7525	10325	9275	8500	7575	7575
	6875	8325	7675	9250	9825	8350	7975	7800

Tableau 54 : DCO (essai 5).

Log(UFC/100mL)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	5,77	5,93	5,94	5,99	5,23	5,52	5,38	5,95
	5,72	5,95	5,92	5,98	5,41	5,58	5,34	5,92
	5,72	5,92	5,91	6,00	5,85	5,49	4,95	5,84
t=5	4,77	4,82	4,90	5,07	4,94	5,05	4,94	5,30
	4,57	4,62	4,88	5,08	4,85	4,84	4,87	5,30
	4,43	4,46	4,63	5,11	4,78	4,56	4,79	5,30
t=10	4,83	4,64	4,46	4,46	4,36	4,58	4,08	4,59
	4,79	4,65	4,43	4,49	4,40	4,53	3,90	4,45
	4,81	4,61	4,49	4,40	4,32	4,64	4,00	3,48

Tableau 55 : Coliformes fécaux (essai 5).

Essai n°6

ST (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	5,61	7,3	5,84	8,73	6,32	6,79	6,16	8,19
	6,15	8,19	6,13	7,34	6,89	6,91	7,37	8,02
t=5	4,68	4,71	5,58	5,72	4,81	4,81	4,86	5,04
	5,22	5,28	5,46	5,38	5,77	5,48	5,16	5,41
t=10	3,46	3,72	3,75	6,16	5,96	6,57	5,88	6,31
	3,88	3,76	4,45	7,64	6,32	6,88	7,52	7,9

Tableau 56 : Solides totaux (essai 6).

SV (g/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	4,38	5,81	4,48	6,81	4,99	5,36	4,92	6,63
	4,8	6,39	4,77	5,82	5,45	5,48	5,85	6,37
t=5	3,63	3,58	4,36	4,46	3,73	3,77	3,78	3,91
	4,05	4,06	4,21	4,18	4,43	4,25	4,01	4,21
t=10	2,7	2,92	2,89	4,98	4,86	5,47	4,86	5,19
	2,99	2,94	3,29	6,43	5,14	5,76	6,15	6,56

Tableau 57 : Solides volatils (essai 6).

DCO (mg/L)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	11775	11225	11900	12475	13900	12150	13250	12225
	11525	11150	10950	11825	11950	11125	11850	11675
t=5	10675	9575	11050	8150	11075	10650	10500	11000
	10900	9550	11225	10475	9775	10575	10975	10700
t=10	7075	6125	7250	10225	10775	11775	12050	10800
	7400	7350	7200	9800	9300	10275	14450	11875

Tableau 58 : DCO (essai 6).

Log(UFC/100mL)	Témoin		Greenpig		Sealand		Septonic	
t=0	5,57	5,75	5,67	5,64	5,79	5,73	5,76	5,80
	5,61	5,68	5,72	5,51	5,83	5,61	5,64	5,85
	4,78	4,90	5,38	4,30	5,80	5,82	5,77	5,62
t=5	4,26	5,05	4,72	4,61	4,91	4,57	4,97	4,79
	4,20	4,94	4,70	4,49	4,94	4,58	4,81	4,80
	4,04	4,98	4,73	4,58	4,92	3,48	4,23	3,85
t=10	4,64	0,00	3,30	4,26	4,59	4,15	4,72	4,28
	4,54	0,00	3,90	4,00	4,62	4,23	4,77	4,43
	3,95	0,00	3,70	3,78	4,48	4,00	4,57	4,41

Tableau 59 : Coliformes fécaux (essai 6).

Annexe 10 : Protocole du test Colilert

Le test Colilert a été réalisé pour le dernier essai et pour la mesure finale au temps $t=10$ jours en complément des autres analyses, pour vérifier à l'aide d'une autre méthode, la concentration en coliformes de l'échantillon de boue de fosse septique. Le détail de la méthode est donné ci-dessous :

Kit d'analyse Colilert*

Introduction

Colilert* permet la détection simultanée des coliformes totaux et *E. coli* dans l'eau. Ce test est basé sur la technologie brevetée Defined Substrate Technology* (DST*) d>IDEXX. Lorsque les coliformes totaux métabolisent ONPG, le substrat chromogène-indicateur de Colilert, le prélèvement vire au jaune. Lorsque l'échantillon est positif, le réactif MUG contenu dans Colilert est métabolisé par les *E. coli* et génère une fluorescence. Colilert peut détecter simultanément ces bactéries à 1 cfu/100 ml en 24 heures, même en présence de bactéries hétérotrophes d'une concentration de 2 millions par 100 ml.

Conditions de Conservation

Conserver entre 2–30°C à l'abri de la lumière.

Procédure de Présence/Absence (P/A)

1. Ajouter le contenu d'un sachet dans un prélèvement de 100 ml placé dans un récipient stérile, transparent et non fluorescent.
2. Fermer le récipient et agiter.
3. Incuber à $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant les 24 heures qui suivent.
4. Interpréter les résultats en se référant au tableau d'interprétation des résultats ci-dessous.

Quanti-Tray* Procédure de numération

1. Ajouter le contenu d'un sachet dans un prélèvement de 100 ml d'eau placé dans un récipient stérile.
2. Fermer le récipient et agiter jusqu'à dissolution.
3. Verser le mélange prélèvement/réactif dans un Quanti-Tray* ou un Quanti-Tray*/2000 et fermer hermétiquement dans un IDEXX Quanti-Tray* Sealer.
4. Placer le plateau hermétiquement fermé dans un incubateur à $35 \pm 0,5^\circ\text{C}$ pendant 24 heures.
5. Interpréter les résultats en se référant au tableau d'interprétation des résultats ci-dessous.
Compter le nombre de puits positifs et se référer au tableau MPN fourni avec les plateaux pour obtenir le Chiffre le plus probable (MPN).

Interprétation des Résultats

Aspect	Résultat
Moins jaune que le comparateur ¹	Négatif pour les coliformes totaux et <i>E. coli</i>
Aussi jaune ou plus jaune que le comparateur	Positif pour les coliformes totaux
Couleur jaune et fluorescence égales ou supérieures au comparateur	Positif pour <i>E. coli</i>



- Évaluer la fluorescence avec une ampoule UV de 6 watts et 365 nm placée à 13 cm du prélèvement dans l'obscurité. Orienter la lumière vers le prélèvement, dans la direction opposée à celle des yeux de l'opérateur.
- Les résultats du test Colilert doivent être lus après 24 heures d'incubation.
- Toutefois, si les résultats de la première lecture sont ambigus pour l'analyste, incubé jusqu'à quatre heures supplémentaires (sans dépasser 28 heures au total) pour laisser la couleur et/ou la fluorescence s'intensifier.
- Les résultats positifs en coliformes et *E. coli* observés avant 24 heures et les résultats négatifs observés après 28 heures sont également valables.
- En outre, les laboratoires peuvent incubé des échantillons pendant une durée plus longue (jusqu'à 28 heures en tout) par souci de commodité.

Remarques Concernant la Procédure

- Cette notice peut différer des réglementations en vigueur dans votre pays. Pour tout test de conformité, suivre les procédures réglementaires appropriées. Par exemple, l'incubation des échantillons dans certains pays est réalisée à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24 à 28 heures.
- Colilert peut être effectué en format de tubes multiples. Utiliser des méthodes standards et les tableaux MPN pour le contrôle des eaux et eaux usées² afin de déterminer les Chiffres les Plus Probables (MPN).
- Si un prélèvement d'eau présente une couleur de fond, comparer le prélèvement inoculé avec Colilert à un contrôle neutre du même prélèvement d'eau.
- Si les prélèvements sont dilués, multiplier la valeur MPN par le facteur de dilution pour obtenir le résultat quantitatif correct.
- Utiliser uniquement de l'eau stérile, non tamponnée et sans oxydant pour les dilutions.
- Colilert est avant tout un test pour eau. Les caractéristiques de performance de Colilert ne s'appliquent pas aux prélèvements altérés par tout enrichissement préalable ou toute concentration.
- Avec les prélèvements présentant un excédent de chlore, il peut se produire une rapide lueur bleuâtre lors de l'ajout de Colilert. Si tel est le cas, le prélèvement n'est pas valide et il faut cesser le test.
- Utiliser systématiquement des techniques aseptiques dans l'emploi de Colilert. Mettre au rebut conformément aux Bonnes pratiques de laboratoire.

Procédures de contrôle de qualité

1. L'une des procédures de contrôle qualité suivantes est recommandée pour chaque lot de Colilert:
 - A. IDEXX-QC³ pour les Coliformes et *E. coli*: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.
 - B. Quanti-Cult⁴ *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.
 - C. Remplir trois récipients stériles avec 100 ml d'eau stérile, non tamponnée et sans oxydant puis inoculer les récipients avec une anse stérile avec des souches ATCC⁵, *Escherichia coli* ATCC 25922/ WDCM 00013 ou ATCC 11775/ WDCM 00090, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 31488/ WDCM 00206 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145/ WDCM 00024 ou ATCC 27853.
2. Suivre la procédure P/A ou la procédure de numération Quanti-Tray ci-dessus.
3. Les résultats doivent correspondre aux résultats du tableau d'interprétation ci-dessus.

REMARQUE: les tests de contrôle qualité internes d>IDEXX sont effectués conformément à la norme ISO 11133:2014. Les certificats de contrôle qualité sont disponible à l'adresse idexx.fr/water.

1. Comparateur P/A IDEXX, réf. n° WP104 ; Comparateur Quanti-Tray n° WQTC ou Quanti-Tray/2000 Comparateur n° WQT2KC

2. Eaton, AD, Clesceri, LS, Greenberg, AE, Rice, EN. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (Méthodes traditionnelles d'analyses de l'eau et des eaux usées), American Public Health Association, 2005. Washington, DC.

3. Coliforme et *E. coli* d>IDEXX-QC - Catalogue IDEXX n° UN3373-WQC-TCEC

4. Cultures Quanti-Cult[®] - IDEXX réf. n° WKIT-1001

5. American Type Culture Collection 1-800-638-6597 atcc.org

*Colilert, Defined Substrate Technology, DST et Quanti-Tray sont des marques de fabrique ou des marques déposées d>IDEXX Laboratories, Inc. ou ses filiales aux États-Unis et/ou dans d'autres pays. Quanti-Cult est une marque de fabrique ou des marques déposée de Remel Inc.

Information sur les brevets: idexx.com/patents.

© 2015 IDEXX Laboratories, Inc. Tous droits réservés.

Annexe 11 : Détails des analyses statistiques

General Linear Model: Réduction ST (t0-t10) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	55571	13892,7	52,48	0,000
Traitement	3	4513	1504,4	5,68	0,001
Error	272	72001	264,7		
Lack-of-Fit	12	18274	1522,9	7,37	0,000
Pure Error	260	53726	206,6		
Total	279	133190			

Comparisons for Réduction ST (t0-t10)

Dunnett Multiple Comparisons with a Control: Response = Réduction ST (t0-t10), Term = Traitement

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

Traitement	N	Mean	Grouping
TEMOIN (Control)	72	28,5034	A
GREENPIG	72	24,2340	A
SEALAND	68	21,1919	
SEPTONIC	68	17,5564	

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

Dunnett Simultaneous 95% CIs

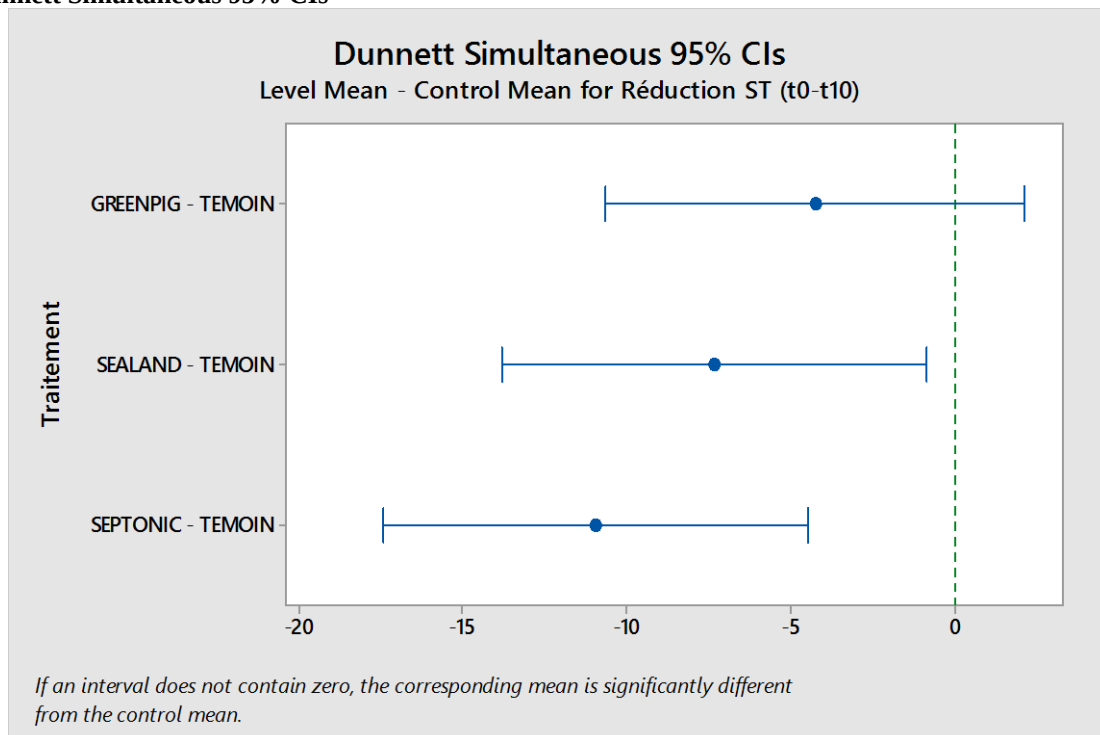


Figure 69 : Test de Dunnett pour la réduction des solides totaux (t0-t10).

General Linear Model: Réduction ST (t0-t5) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	51466	12866,4	59,82	0,000
Traitement	3	692	230,6	1,07	0,361
Error	276	59367	215,1		
Lack-of-Fit	12	5594	466,2	2,29	0,009
Pure Error	264	53773	203,7		
Total	283	111477			

General Linear Model: Réduction SV (t0-t10) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	42019	10504,8	35,43	0,000
Traitement	3	5288	1762,6	5,94	0,001
Error	276	81833	296,5		
Lack-of-Fit	12	19888	1657,3	7,06	0,000
Pure Error	264	61945	234,6		
Total	283	130476			

Comparisons for Réduction SV (t0-t10)**Dunnett Multiple Comparisons with a Control: Response = Réduction SV (t0-t10), Term = Traitement**

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

Traitement	N	Mean	Grouping
TEMOIN (Control)	72	31,6968	A
GREENPIG	72	29,7217	A
SEALAND	72	24,0411	
SEPTONIC	68	20,8322	

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

Dunnett Simultaneous 95% CIs

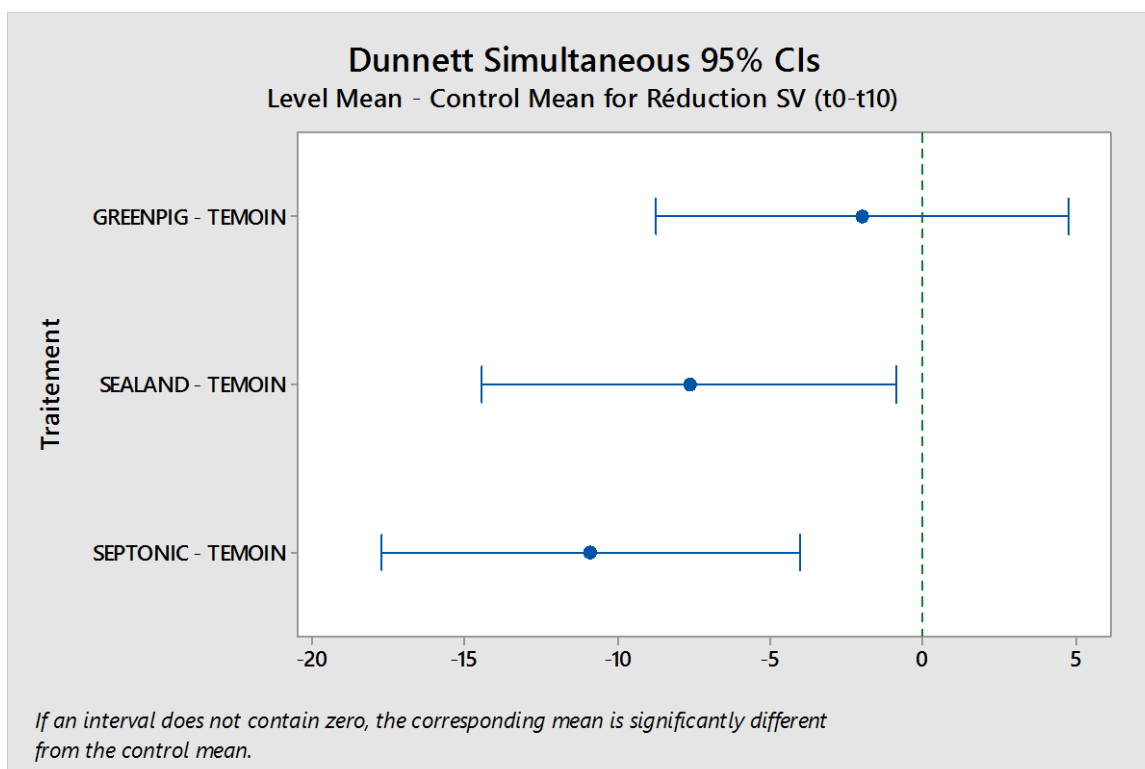


Figure 70 : Test de Dunnett pour la réduction des solides volatils (t0-t10).

General Linear Model: Réduction SV (t0-t5) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	51933	12983,2	53,30	0,000
Traitement	3	771	256,9	1,05	0,369
Error	276	67234	243,6		
Lack-of-Fit	12	4330	360,9	1,51	0,119
Pure Error	264	62904	238,3		
Total	283	119693			

General Linear Model: Réduction DCO (t0-t10) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	30925	7731,28	59,60	0,000
Traitement	3	6270	2089,97	16,11	0,000
Error	280	36324	129,73		
Lack-of-Fit	12	14712	1225,96	15,20	0,000
Pure Error	268	21613	80,64		
Total	287	73519			

Comparisons for Réduction DCO (t0-t10)

Dunnnett Multiple Comparisons with a Control: Response = Réduction DCO (t0-t10), Term = Traite
Grouping Information Using the Dunnnett Method and 95% Confidence

Traitement	N	Mean	Grouping
TEMOIN (Control)	72	28,6424	A
GREENPIG	72	25,8100	A
SEALAND	72	19,2945	
SEPTONIC	72	17,1769	

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

Dunnnett Simultaneous 95% CIs

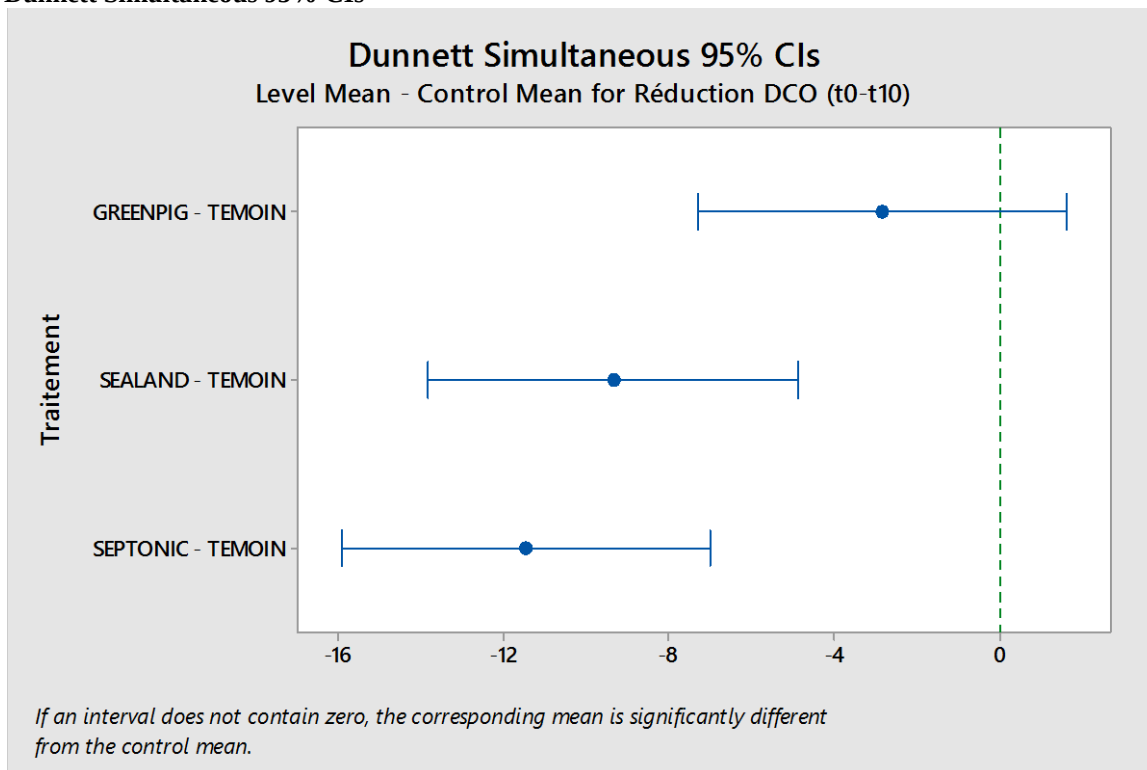


Figure 71 : Test de Dunnnett pour la réduction de la DCO (t0-t10).

General Linear Model: Réduction DCO (t0-t5) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	19780,0	4944,99	49,20	0,000
Traitement	3	903,2	301,06	3,00	0,031
Error	280	28139,9	100,50		
Lack-of-Fit	12	8994,9	749,57	10,49	0,000
Pure Error	268	19145,0	71,44		
Total	287	48823,1			

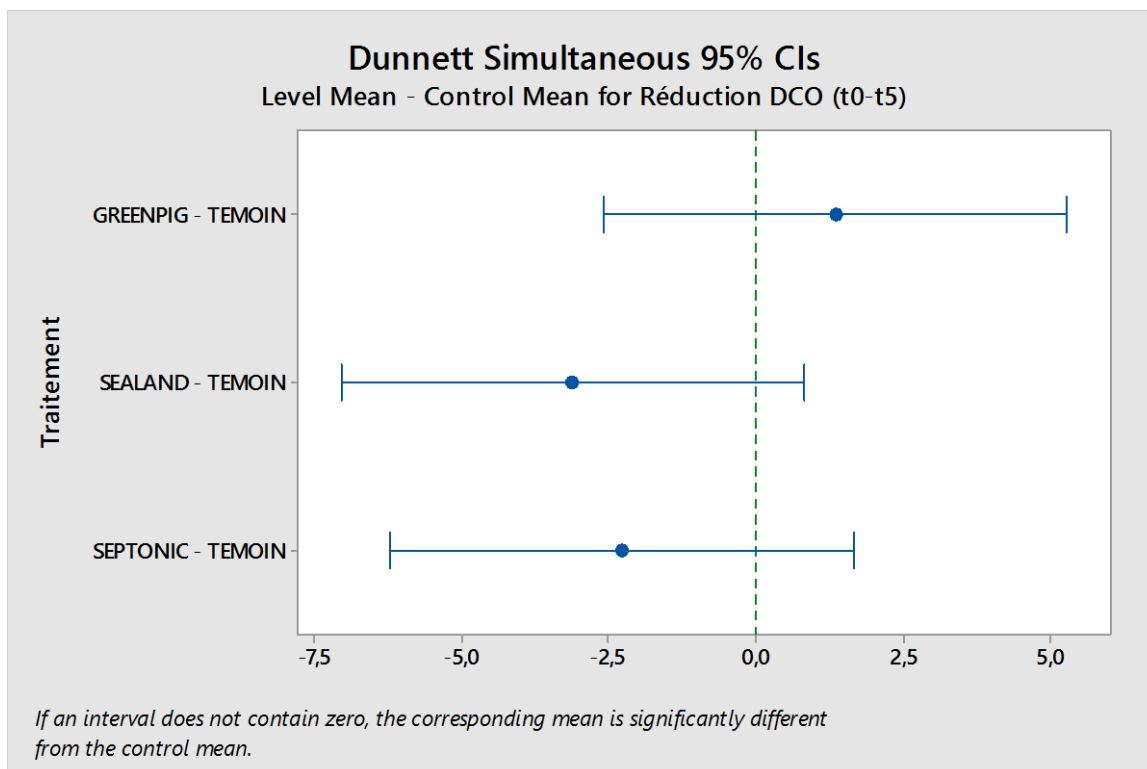


Figure 72 : Test de Dunnett pour la réduction de la DCO (t0-t5).

General Linear Model: Réduction Coliformes (t0-t10) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	2122,59	530,647	1607,94	0,000
Traitement	3	13,78	4,593	13,92	0,000
Error	631	208,24	0,330		
Lack-of-Fit	12	40,88	3,406	12,60	0,000
Pure Error	619	167,36	0,270		
Total	638	2348,88			

Comparisons for Réduction Coliformes (t0-t10)

Dunnett Multiple Comparisons with a Control: Response = Réduction Coliformes (t0-t10), Term =

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

Traitement	N	Mean	Grouping
TEMOIN (Control)	153	3,01447	A
GREENPIG	162	2,96728	A
SEALAND	162	2,70969	
SEPTONIC	162	2,68757	

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

Dunnett Simultaneous 95% CIs

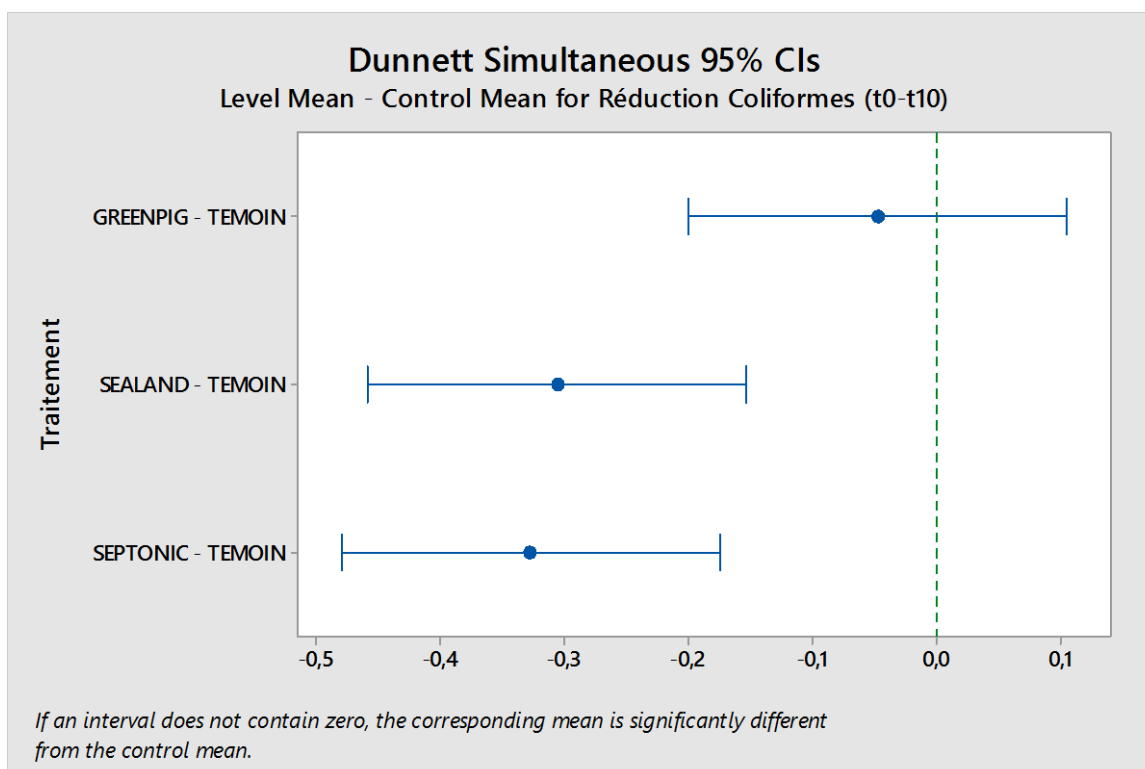


Figure 73 : Test de Dunnett pour la réduction des coliformes fécaux (t0-t10).

General Linear Model: Réduction Coliformes (t0-t5) versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	48,531	12,1327	59,58	0,000
Traitement	3	7,310	2,4368	11,97	0,000
Error	640	130,331	0,2036		
Lack-of-Fit	12	42,854	3,5712	25,64	0,000
Pure Error	628	87,477	0,1393		
Total	647	186,172			

Comparisons for Réduction Coliformes (t0-t5)

Dunnett Multiple Comparisons with a Control: Response = Réduction Coliformes (t0-t5), Term =

Grouping Information Using the Dunnett Method and 95% Confidence

Traitement	N	Mean	Grouping
TEMOIN (Control)	162	1,24202	A
GREENPIG	162	1,34133	A
SEPTONIC	162	1,12736	A
SEALAND	162	1,06488	

Means not labeled with the letter A are significantly different from the control level mean.

Dunnett Simultaneous 95% CIs

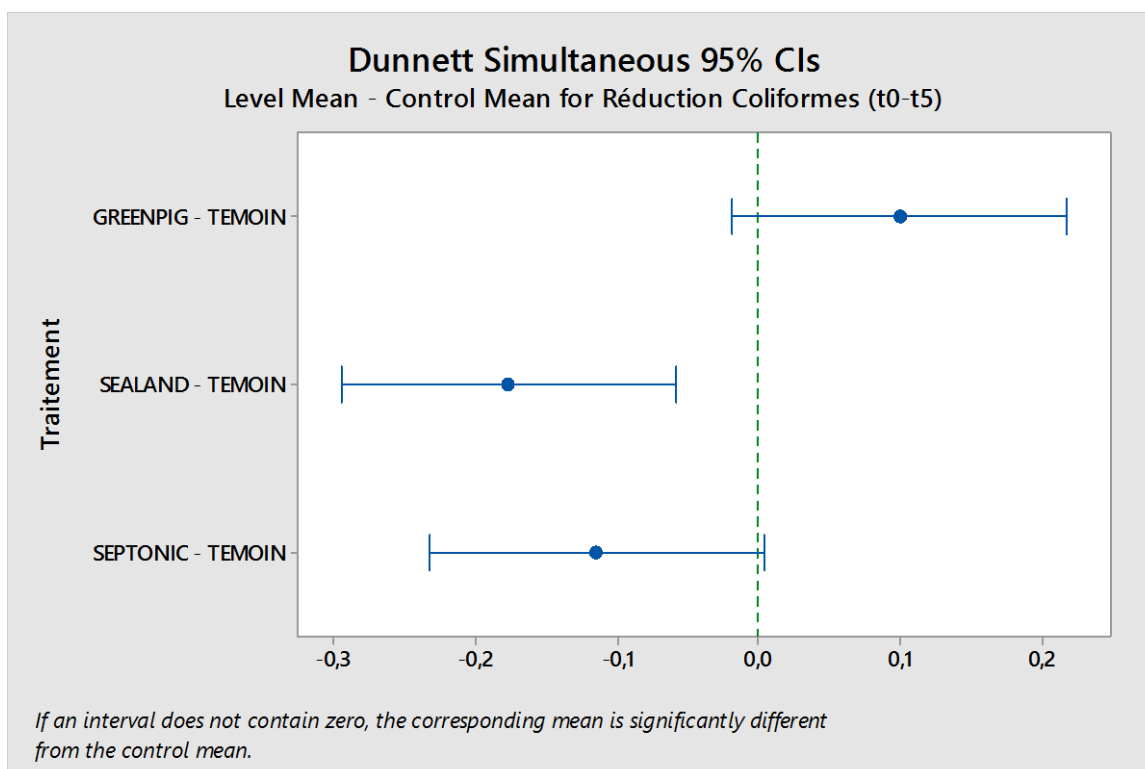


Figure 74 : Test de Dunnett pour la réduction des coliformes fécaux (t0-t5).

ANOVA Montages

General Linear Model: Volume de CH₄ versus Echantillon n°; Montages

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Montages	Fixed	3	BMP v.2; OXITOP; SERINGUE

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	4872,7	1218,16	17,70	0,000
Montages	2	146,6	73,32	1,07	0,356
Error	33	2271,5	68,83		
Lack-of-Fit	8	1792,5	224,06	11,69	0,000
Pure Error	25	479,0	19,16		
Total	39	7290,8			

ANOVA Activité méthanogène

General Linear Model: Volume de CH₄ versus Echantillon n°; Traitement

Factor Information

Factor	Type	Levels	Values
Echantillon n°	Random	5	2; 3; 4; 5; 6
Traitement	Fixed	4	GREENPIG; SEALAND; SEPTONIC; TEMOIN

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Echantillon n°	4	5275,34	1318,83	134,27	0,000
Traitement	3	47,25	15,75	1,60	0,208

Error	32	314,31	9,82		
Lack-of-Fit	12	126,06	10,51	1,12	0,400
Pure Error	20	188,25	9,41		
Total	39	5636,90			