

# Une méthodologie d'analyse des boues activées adaptée aux dysfonctionnements de stations d'épuration victimes de catastrophes naturelles

Bernard Védry, Res Naturalls sarl  
Catherine Galtier, APB Environnement

Spécialisée dans la bio-activation des écosystèmes industriels, APB Environnement applique une méthodologie d'analyse des boues activées adaptée aux dysfonctionnements de stations d'épuration victimes de catastrophes naturelles aux conséquences sanitaires désastreuses (tremblements de terre, inondations, etc.....). Lorsque l'analyse à l'état frais n'est pas possible, l'analyse sur lame séchée est systématiquement pratiquée avec des résultats exploitables. Deux notions innovantes dans la méthodologie: le volume spécifique des microfaunes, qui sert à reconnaître l'ordre des influences des espèces sur la biomasse totale et le « pélogramme », représentation schématique de la population des filaments bactériens de la boue activée.

**L'**implantation d'APB dans le sud-Est asiatique et en Afrique a révélé une problématique sous-estimée en France métropolitaine, celle de l'expertise biologique sur des stations d'épuration lors d'incidents climatiques trop fréquents dans les zones tropicales (typhon, tsunami, inondations périodiques, tremblements de terre, sécheresses et/ou inondations exceptionnelles sans parler d'orages politiques).

Or, les stations d'épuration à boues activées sont les barrières aux épidémies ravageuses en cas d'incidents graves. Un suivi de l'état de la boue activée, de sa régénération est impératif pendant la période de dysfonctionnement de la station.

C'est ainsi que cette société est amenée à recommander aux exploitants de stations provisoirement sinistrées, non pas de prélever des boues fraîches mais des lames séchées faciles à expédier.

## Le principe de la méthode

Sans entrer dans le détail de la méthode, elle comporte six étapes:

1. Visite et inspection de la station d'épuration;
2. Analyse de la boue activée à l'état frais: tests de décantation, flottants éventuels, aspect de l'eau épurée, suspensions visibles dans la boue activée;
3. Forme des floccs à l'état frais et à l'état sec, distribution de la taille des floccs

## ABSTRACT

### **A methodology of analysis of activated sludges adapted to the dysfunctions of water-treatment plants victims of natural disasters**

APB Environnement, a company specializing in bio-activation of industrial eco-systems applies a method of activated sludge analysis suitable for purification plants disabled by natural catastrophes (earthquakes, overflows,..) along with sanitary disasters, especially in tropical areas. When biological analyses of fresh activated sludge are impossible, an analysis of dry sludge on a slide is always carried out with practical results. Two innovating notions within the methodology: Specific volume of microorganisms allowing for identifying the scale of influences of the various genders on the biomass as a whole, Pelogramme, a schematic drawing of filamentous bacteria population of the bulking activated sludge.

au microscope, recherche des matières en suspension d'origine fécale dans le floc, identification et numération;

4. Analyse à l'état frais et sur lame sèche de la biocénose: microflore, microfaune, Protozoaires et Métazoaires, Identification et numération;

5. Analyse des filaments bactériens, identification et numération approximative sur lame sèche;

6. Analyse des colonies bactériennes zoogléales sur lame sèche.

Les étapes 1 & 2, quoique souhaitables, sont parfois impossibles à réaliser. (Station d'épuration inaccessible). La méthode s'applique alors sur les étapes 3, 4, 5, et 6 à partir de prélèvements de boues activées sur lames sèches.

### Visite et inspection de la station

APB attache une grande importance à cette inspection révélatrice de conditions chimiques et biologiques qui sélectionnent les souches bactériennes des boues activées.

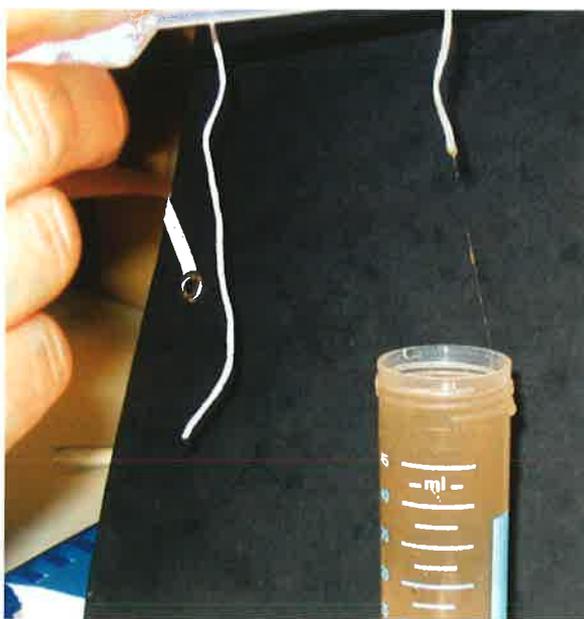
#### Odeurs (nez):

- Odeurs sur la station ;
- Odeurs uniquement sur le bassin d'aération ;
- Odeurs aux sources habituelles eaux brutes, refus de grille, traitement des boues, stockage des boues fraîches ou digérées, des odeurs détectées (fécales, fermentaires, sulfureuses, ammoniacales, hydrocarbures) ;

Ces informations orientent l'analyste vers un diagnostic des facteurs de sélection dans les boues activées.

#### Couleur et aspect des boues activées (œil):

- Couleur: rouille, beige, orange, gris, brun foncé, brun moyen.
- Présence de mousses: absence de mousse, présence de mousses dans les coins du bassin d'aération, bassin couvert de mousses, plaques sèches et dures en surface, épaisses à tranche nette, mousses blanches, plus ou moins brunes, beiges ou orangés.
- Algues noires: aspect de gel noir brillant ou vert foncé sur les parois du bassin au-



Fil bactérien de O21N.

dessus de la boue activée.

- Répartition de l'aération: distribution régulière ou irrégulière des bulles d'air, portées des gerbes des aérateurs de surface, zones du bassin non agitées par l'aération.
- Flottants: flottants épais ou insignifiants dans le puits de dégazage, dans le Cliford du clarificateur, flottants en surface du clarificateur.

Ces informations orientent l'analyste vers un diagnostic des facteurs de sélection dans les boues activées.

#### Le toucher des boues activées (doigt):

- Toucher des boues: test très simple consistant à plonger deux doigts réunis pouce et index dans la boue et en sortant les deux doigts, les écarter lentement: parfois un fil se forme entre les deux doigts. Il s'agit alors d'un floc très filamenteux à O21N ou Thiothrix. Gants indispensables.
- Filage des boues: c'est le test consistant à plonger un crayon dans un bécquet contenant de la boue et en le relevant lentement, un fil apparaît. C'est la même information que le toucher des boues plus hygiénique mais moins instantané.

#### Décantation en éprouvette

- Observation de l'aptitude au tassement informe sur l'expansion des flocs filamenteux,
- Recherche des dilutions provoquant une décantation visible en trente minutes
- Recherche en surface de l'éprouvette d'un film léger d'aspect gras flottant, indice de bactéries filamenteuses hydrophobes

- Observations des flocs en décantation, petits, gros, homogènes, présence de suspensions, inertes ou animales (petits vers).

#### Aspect de l'eau épurée à deux moments de la journée

- L'eau épurée est turbide, contient des suspensions ou au contraire limpide ou même cristalline (très limpide). Observation à faire idéalement au creux de débit et à la pointe du débit sinon sur prélèvement 24 heures.

#### Entomologie environnementale

- On entend par ce beau mot l'observation des insectes dans la station: mouches *Psychoda*, mouches et larves *Eristalis*, blattes et fourmis en pays tropicaux, moustiques et larves de moustiques, indices infallibles de flaques d'eau stagnantes, d'endroits humides non accessibles, indices de vétusté ou de conception sanitaire défailante des installations et urgence du traitement.

#### Faune et végétation

- Mouettes, corbeaux, pies, cigognes en pays chauds, oiseaux tropicaux, rats, souris ragondins ;
- Végétation sur des flottants dans les bassins, dans des fissures du béton, etc.....

#### Visite spéciale du traitement des boues

- Stockage des boues primaires, stockage des boues digérées, stockage des boues déshydratées, examen de la cuve à floculants (colonisation des parois internes par un biofilm bactérien).

#### Coup d'œil à l'exutoire et au milieu récepteur

- Présence de pêcheurs à la ligne ;
- Aspect du lit de la rivière, du canal ou du fleuve avant et après rejet ;
- Autant d'indices précis sur le fonctionnement de la station et l'état de ses boues activées.

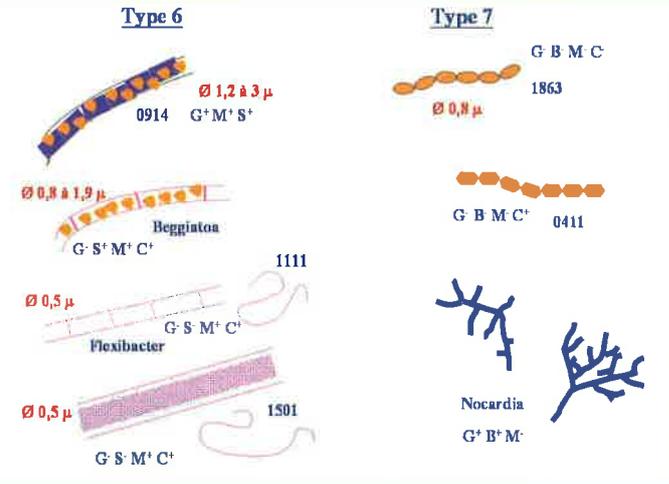
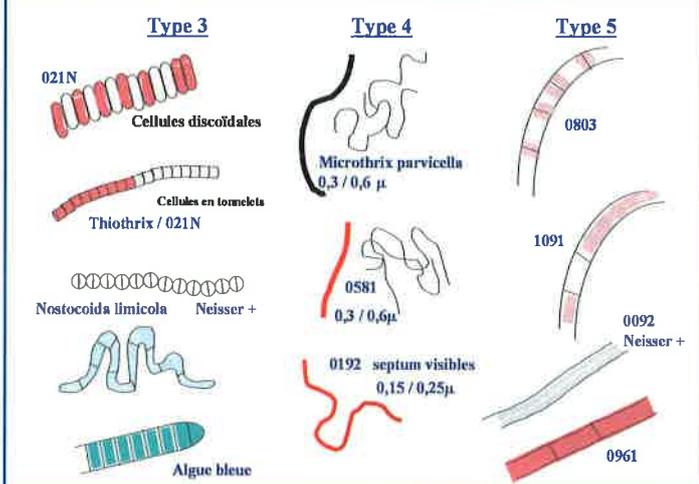
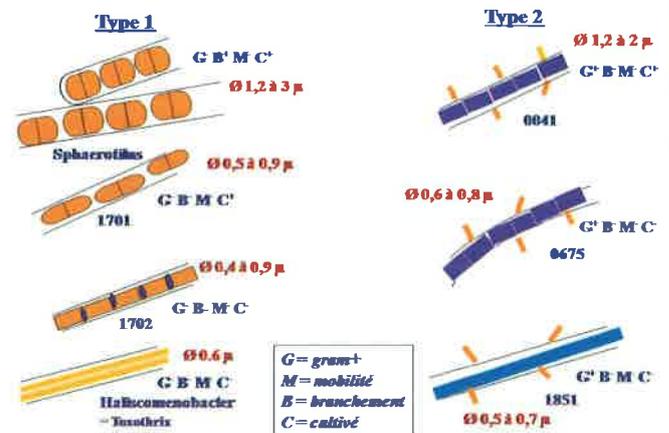
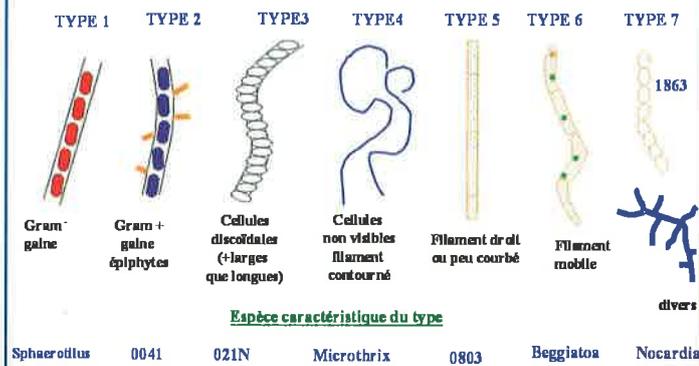
#### Préparation d'un échantillon de boue activée sur lame sèche

Cette technique est systématiquement pratiquée par APB lorsque l'analyse à l'état frais n'est pas possible: éloignement de la station, absence de personnel et d'équipements appropriés, incidents graves tels

## BACTERIES FILAMENTEUSES DES BOUES ACTIVEES

Principe de classification de EIKELBOOM (1975)

EIKELBOOM reconnaît 7 types filamenteux comprenant chacun plusieurs espèces



qu'inondations, tremblements de terre, typhons, tempêtes de sable, éruptions volcaniques, etc...

### Méthode de préparation de la lame

L'exploitant de la station prélève un échantillon homogène représentatif de la boue activée en fin de la zone d'aération, l'emploi de gants en caoutchouc est indispensable dans les zones à risques sanitaires.

- Il verse avec une pipette une goutte (environ 0,05 ml) sur une lame en verre de microscopie préalablement soigneusement dégraissée à l'alcool (un alcool de distillation locale convient très bien) et flambée sur lame. La lame est indexée en indiquant le lieu, la date et le numéro de lame préparée. Le dégraissage est nécessaire pour permettre l'étalement de la goutte de l'opération suivante.
- Il étale la goutte sur une surface d'environ 24 mm sur 32 mm, surface d'une lamelle de microscope. L'étalement de la goutte est fait avec le coin d'une autre lame.
- Laisser sécher à l'air à température ambiante.
- L'exploitant prépare deux lames de la même manière qui seront numérotées 1 et 2.
- La boue activée de l'échantillon repré-

sentatif est maintenant diluée au 1/4, c'est-à-dire dans un volume V de boue activée seront mis trois volumes V d'eau distillée (ou eau de pluie). La préparation de la boue activée diluée au 1/4 a pour but de faciliter dans certains cas la lecture et la coloration de la lame par l'analyste.

- Préparer deux autres lames numérotées 3 et 4 avec la boue diluée à 1/4 de la même manière que les lames 1 et 2, c'est-à-dire déposer la goutte diluée étaler et sécher.
- L'exploitant envoie au destinataire les quatre lames numérotées 1, 2, 3 et 4 dans un petit paquet bien protégé contre les chocs en prenant la précaution entre chaque lame de mettre deux bandes de carton collées pour éviter que la face des lames recouverte de l'échantillon séché ne frotte contre une autre lame et ne l'endommage. L'envoi se fera aux dimensions doubles des lames, par exemple une enveloppe papier ou cartonnée à doublure de plastique bulle.

### Classification des filaments bactériens selon Eikelboom

Ces tableaux de synthèse élaborés par Bernard Védry à partir des données Eikelboom permettent dans la plupart des cas l'identification des bactéries filamenteuses à l'état

frais ou sur lame sèche réhydratée sans coloration. Toutefois, la coloration est un complément utile de façon générale parce qu'elle met en évidence les souches zoogléales et de façon indispensable l'identification de trois bactéries filamenteuses.

### Foisonnement filamenteux : dysfonctionnement fréquent des boues activées

Les boues activées sont une communauté de souches bactériennes zoogléales, d'espèces bactériennes filamenteuses, de Protozoaires et Métazoaires, en équilibre démographique sous l'influence de multiples facteurs de sélection aux interactions mutuelles. Les boues activées, majoritairement, comportent une phase de séparation eau épurée/boue par décantation. La décantation n'autorise en aucun cas des biomasses à faible densité, flottantes, c'est-à-dire filamenteuses, lesquelles par ailleurs pourraient parfaitement épurer. Il faut pour cette raison rechercher systématiquement des boues décantant bien, à faible teneur en filaments bactériens et en petits floccs. La présence de filaments étant inévitable, l'exploitant doit contrôler en permanence leurs effectifs pour rechercher, non leur élimination totale, mais leur maîtrise dans

des limites acceptables.

D'autre part, toute perturbation grave dans une station d'épuration se traduit par des changements d'équilibre des facteurs bactériens de sélection conduisant la plupart du temps à l'activation des souches filamenteuses, et donc au foisonnement des boues.

### Principales nuisances imputées aux filaments bactériens dans les boues activées

1/ L'expansion (gonflement) des boues activées filamenteuses empêche leur tassement. La décantation devenue impossible a deux conséquences directes. Des pertes de boue dans l'eau épurée au niveau du clarificateur, en particulier aux heures de pointe de débit et une augmentation de la charge massique (kgDBO<sub>5</sub>/kgMS<sub>j</sub>), ce qui implique diminution de la qualité de l'épuration de l'eau interstitielle.

2/ Certains filaments génèrent des mousses par sécrétions de mucus. Les mousses sont nuisibles car elles forment une couche persistante concentrée plus ou moins épaisse en surface des boues, pérennisent l'ensemencement des boues activées et provoquent la durée de l'épisode moussant. De plus, elles créent des risques d'accidents graves en recouvrant les passerelles et en noyant les équipements électriques et mécaniques et produisent des odeurs fermentaires dans les sites confinés que sont les bulles d'air des mousses, phénomène d'autant plus intense qu'il fait chaud. La couche de mousse supprime des échanges d'oxygène entre boue activée et air atmosphérique

3/ Augmentation de la DCO de l'eau épurée due à la production de mucus bactérien dissous non biodégradable, le même mucus responsable des mousses

4/ Diminution catastrophique du taux de dissolution de l'oxygène dans l'eau à cause du mucus et accentuation des influences négatives des faibles concentrations en oxygène avec souvent l'ingérable dilemme: augmenter le débit d'air pour augmenter la concentration en oxygène dissous s'accompagne d'une augmentation accrue de la hauteur de mousses.

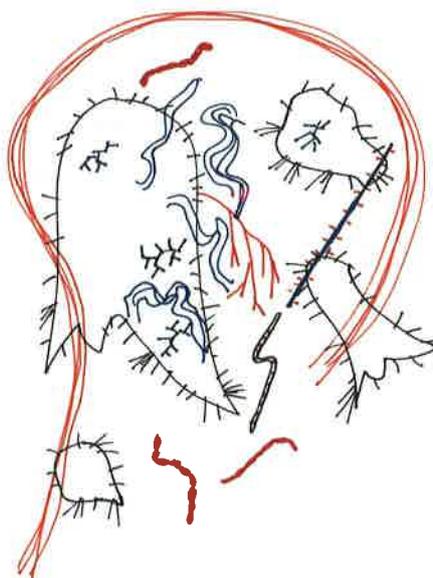
5/ Débordement des digesteurs anaérobies à cause des boues activées en excès moussantes. Le digesteur mousse sous l'effet des bulles de biogaz au contact du mucus.

6/ Difficultés de flocculer et de déshydrater les boues en excès filamenteuses.

### Niches écologiques des filaments bactériens

Chaque espèce de filament bactérien des boues activées ayant ses propres particularités morphologiques, nutritionnelles, physiologiques, environnementales (ce que l'on appelle « les facteurs de sélection ») trouve dans les floccs l'habitat préférentiel où sont couverts au mieux ses besoins, habitat appelé « niche écologique du filament ».

Or, il est possible à l'exploitant de la station de modifier, par les moyens dont il dispose, les équilibres au niveau des niches écologiques avec la conséquence de modifier les développements des bactéries filamenteuses qui les peuplent. Dans le schéma ci-dessous, les niches écologiques des filaments bactériens les plus fréquents sont présentées:

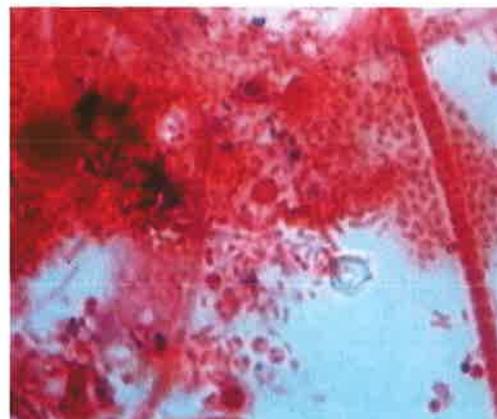


- Les très longs trichomes souples et en écheveau dans le liquide interstitiel.
- Les trichomes raides à épiphytes à la fois attachés aux floccs et dans le liquide.
- Les trichomes à la surface du flocc.
- Les trichomes libres uniquement dans le liquide.
- Les trichomes dans le flocc.
- Les trichomes de bactéries du soufre.

### Commentaires sur certains filaments

Certaines bactéries sécrétrices de mucus et de plus exploitant la niche écologique du liquide interstitiel (021N, *Thiothrix*) modi-

fient à l'avantage de leur métabolisme les propriétés de l'eau interstitielle. Le mucus bactérien qui élève sensiblement la DCO de l'eau, tend à retarder l'adsorption de la DBO<sub>5</sub> sur les exopolymères des floccs. Il s'ensuit un contact plus long entre bactéries filamenteuses et le substrat nutritif dissous dans l'eau interstitielle durant la vie du flocc dans le bassin, décisif pour leur développement et forcément d'autant moins pour les souches zoogléales.



Flocc de bactéries zoogléales et de longs et forts filaments 021N.

Les filaments dont la niche écologique est le flocc zoogléal, trouvent leurs substrats nutritifs au contact de l'exopolymère des floccs, là où la DBO<sub>5</sub> est adsorbée. Ils sont plus difficilement destructibles sans léser les bactéries zoogléales.

Les filaments 0041, 0675 ont leur surface colonisée par des colonies zoogléales qui se développent le long des axes filamenteux et produisent ainsi des floccs à forme dite « lacuneuse ». Cette forme peut être tolérée en exploitation mais on la reconnaît inquiétante par sa propension au gonflement sans tassement, c'est-à-dire avec mauvaise décantation dans le clarificateur. Ce type de floccs lacuneux à filaments 0041,



Trichome à gaine avec bactéries épiphytes fixées : 0041

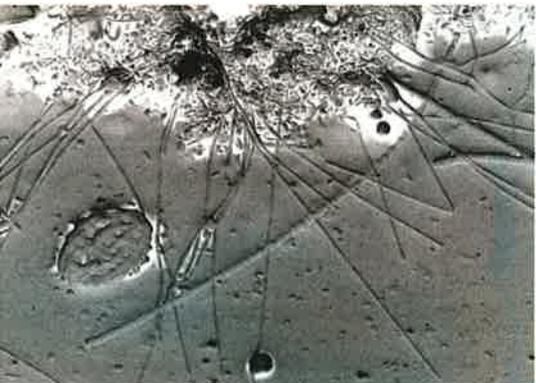
0675 se trouve dans les stations d'épuration modernes à faible charge sans décantation primaire avec nitrification/dénitrification et déphosphatation chimique.

Un facteur de sélection évident est l'ensemencement permanent de la boue activée par la souche filamenteuse indésirable. C'est le cas de filament *Nocardia* et *Microthrix* lorsqu'une couche de mousse stable contenant ces filaments est formée en surface du bassin qui s'autoensemence en filament.



**Mousses épaisses et fermes en surface d'aérateur, mousses à *Microthrix* et *Nocardia*.**

Les petits filaments bactériens saillant du floc parfois très nombreux en surface modifient la rugosité de la surface des flocs. Ils forment une couche limite à échanges diminués et donc à adsorption diminuée du substrat nutritif. On les considère comme précurseurs de filaments plus longs aux effets plus pervers sur la décantation des flocs.



**Floc zoogléale avec bactéries radiales rayonnantes du genre *Hallscomenobacter*.**

Le traitement de déphosphatation au chlorure ferrique produit sur les flocs de boue activée d'âge élevé un dépôt de  $FePO_4$



***Microthrix* plaqué sur lamelle, caractère hydrophobe.**

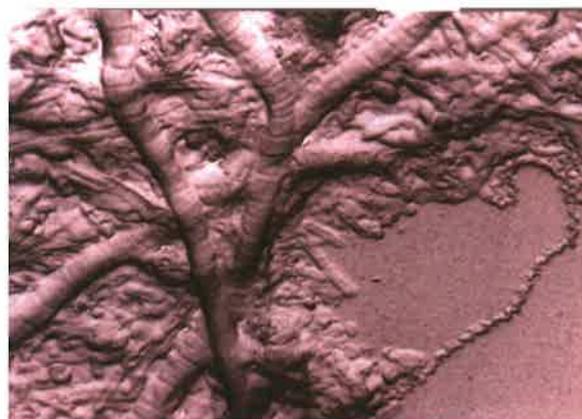
et  $Fe(OH)_3$  dont les effets sélectifs sur la population filamenteuse sont importants :

- D'une part, le traitement améliore la décantation ainsi que la clarification de l'eau épurée,
- D'autre part, le traitement adsorbe une partie de la DBO sur les boues de  $Fe(OH)_3$ . Il en résulte une diminution de la production de boue biologique et une élimination des bactéries libres de l'eau épurée, bactéries libres qui engendraient une population de prédateurs Protozoaires (Péritriches et Flagellés) et qui maintenant font défaut.

Par ailleurs, la floculation entraîne une concentration des filaments à la surface des flocs ce qui sélectionne des filaments de la niche écologique surface du floc et intérieur du floc, c'est-à-dire le quarté classique: *Nocardia*, 0041, 0675 et *Microthrix*.

Un facteur de sélection remarquable de filaments bactériens est le soufre réduit sous forme principale  $S^{2-}$ . Les eaux brutes septiques, par exemple en pays chauds ou en été en Europe sont riches en  $S^{2-}$ , en particulier lorsque le réseau comporte des stations de relèvement.

Ce type d'eau engendre inmanquablement dans les boues activées des filaments « thiophiles » qui oxydent  $S^{2-}$ , en  $S^0$  (soufre natif) intracellulaire. Les bactéries les plus remarquables sont les 021N et *Thiothrix* qui forment des écheveaux de filaments

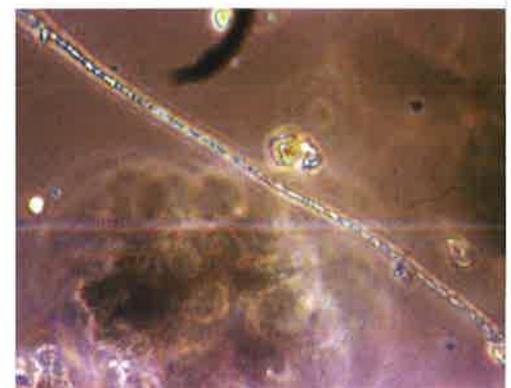


**Floc de bactéries Zoogléales et de longs et forts filaments 021N.**

longs et filants reconnaissables sans microscope par la propriété de former un fil. Ils sont sélectionnés par des eaux brutes septiques contenant une forte teneur en soufre réduit provenant de la réduction des sulfates. Plusieurs méthodes de lutte sont possibles consistant toutes à supprimer le soufre réduit dans l'eau brute.



***Sphaerotilus* avec faux branchement caractéristique.**



***Begglatoa* longs filaments motiles avec granules de soufre réfringents.**

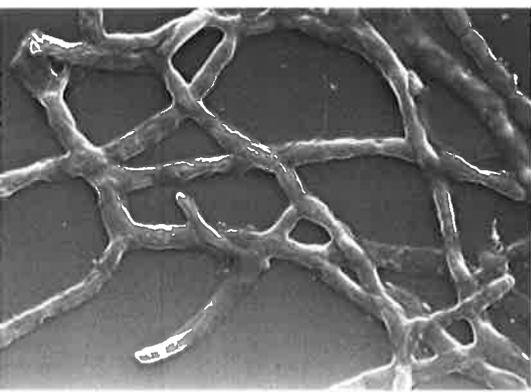
Les eaux brutes très chargées sélectionnent, grâce aux substrats nutritifs organiques qu'elles contiennent et à ceux résultant de la fermentation putride. Ce sont les bactéries du premier groupe selon Eikelboom, principalement *Sphaerotilus* et 1701.

Simultanément à ces bactéries qui produisent un foisonnement important, d'autres bactéries indicatrices de soufre réduit sont présentes dans la boue activée mais n'occa-

sionnent pas de foisonnement, ce sont les remarquables indicateurs de milieu réducteurs: les *Beggiatoa* motiles.

### Interactions souches zoogléesales formant flocs et filaments bactériens

Les deux groupes de croissance bactérienne floculée et croissance filamenteuse sont complémentaires dans un écosystème de boues activées dont la finalité biologique est l'exploitation maximale de l'énergie chimique. Dans les stations d'épuration actuelles bien souvent, une oscillation des équilibres entre ces deux groupes est connue des exploitants qui savent que la saison filamenteuse arrive et que les ennuis dureront quelques mois avant de se résorber si on ne fait rien ou qu'il faudra intervenir pour limiter l'expansion filamenteuse. Ces deux groupes ont des relations nutritionnelles. Certains filaments prennent leur développement dans le floc, étant en contact avec l'exopolymère des souches zoogléesales qui adsorbent la DBO de l'eau brute. Ainsi s'expliquent les espèces filamenteuses toujours enveloppées de



***Nocardia* avec branchements vrais caractéristiques.**

souches zoogléesales.

Une autre relation entre zoogléesales et filamenteuses est celle des Actinomycètes, groupe de bactéries émettrices de substances inhibitrices des souches unicellulaires. Les *Nocardia*, qui sont des Actinomycètes, renforcent par ce procédé leur

implantation dans le floc que d'autres facteurs de sélection peuvent encore plus stimuler (substrat nutritifs gras).

### Analyse des souches zoogléesales formant flocs

Une grande variété de souches bactériennes unicellulaires Gram négatif se trouve dans les flocs de boues activées. Ces bactéries sont agglomérées dans un gel d'exopolymère; leur croissance a lieu par division. Après un certain temps, il en résulte la formation d'une grappe appelée « sphère de croissance » dont les divisions cellulaires sont à la périphérie de la sphère, là où le substrat et l'oxygène diffusent. L'intérieur de la sphère est forcément privé du substrat et d'oxygène, donc est anoxique voire anaérobie.

Dans une boue activée, on rencontre des souches hétérotrophes sous forme de sphères de croissance d'origine fécale ou tellurique en contact avec les souches autotrophes, elles-mêmes en grappes nitrifiantes et nitrifiantes ainsi que des souches dénitrifiantes hétérotrophes d'origine tellurique.

Des souches accumulatrices de phosphate, des souches oxydantes du soufre réduit sont également rencontrées.

L'examen sur lame sèche après coloration Gram permet d'entrevoir les souches dominantes, les souches secondaires. L'évolution des proportions des souches est observable au cours de modifications effectuées dans la station.

L'analyse du floc au fort grossissement informe de plus sur la nature et la quantité des dépôts inertes provenant de l'eau brute et collés sur les flocs et sur l'influence qu'ils peuvent avoir sur la biomasse.

### Expression des résultats: le « Pélogramme »

Dans le cas d'un suivi analytique sur une période longue, la méthode exposée pratique le rendu analytique des résultats par un schéma stylisé des espèces filamenteuses présentes ainsi que leurs propor-

tions dans une boue activée à un certain nombre. C'est un « pélogramme » (étymologie: un graphique des boues). C'est une méthode pédagogique d'apprentissage par l'image qui prétend plus facilement et plus rapidement faire comprendre au lecteur des données multiples que la lecture d'un tableau contenant ces mêmes données.

C'était déjà la méthode de Serge Winogradsky pour présenter les colonies bactériennes d'un sol, un « pédogramme » (graphique d'un sol). Cette méthode encore toute manuelle est le préalable, le modèle manuel d'une analyse des filaments des boues par analyse d'image automatique et restitution des résultats sous forme d'un schéma informatisé.

### Conclusions

Quoique classique dans son ensemble, la méthodologie développée dans cet article comporte toutefois des particularités remarquables.

Dans le cas de catastrophes sanitaires dues à des stations d'épuration sinistrées et inaccessibles, une analyse sur prélèvement de boues activées sur lames sèches est recommandée. APB fait usage de la notion de volume spécifique des macro et microfaunes permettant une évaluation objective de leur impact dans la boue activée et donc sur l'épuration.

L'analyse du foisonnement filamenteux est basée sur la notion de facteurs de sélection à interactions mutuelles, notion qui conduit aux causes du développement filamenteux et à ses remèdes.

L'analyse des souches zoogléesales sur lames sèches permet un suivi des boues activées et leur restauration en cas de dysfonctionnement.

Lors d'un suivi prolongé, le traitement du foisonnement filamenteux sous forme de « Pélogrammes » (graphiques stylisés des types filamenteux présents et leur rapport numérique dans l'esprit d'une pédagogie par l'image), préalable à une analyse d'image automatique des boues activées d'un futur proche, est présenté. ■