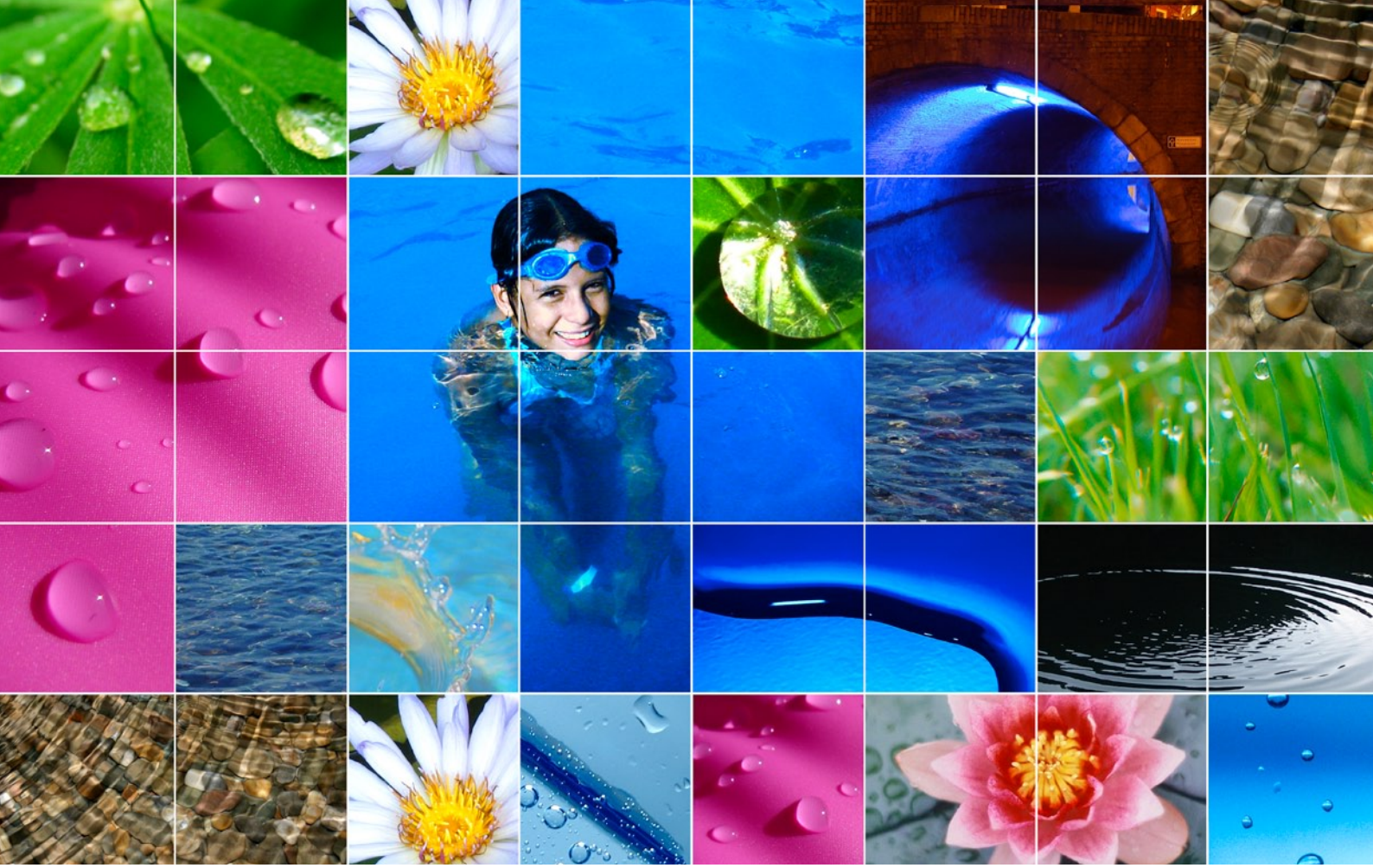


Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™) pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

aqua-tools.com

Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

Introduction

Les stations d'épuration biologiques sont soumises à des normes strictes et leur état de fonctionnement est suivi quotidiennement par les exploitants des sites. Les tests de contrôle pour le pilotage des stations de traitement d'eaux usées sont pratiqués **régulièrement** dans le but de satisfaire à la réglementation Européenne très stricte au regard des effluents d'eaux usées. Les méthodes utilisées sur le terrain permettent la mesure de la matière en suspension totale ou/ et organique, **tels que le MES, mesurant les solides totaux contenus dans les bioréacteurs, et les MVS**, mesurant la matière en suspension organique sans faire la différence entre la biomasse vivante ou morte. Or, c'est uniquement la biomasse vivante qui a une fonction épuratrice dans les stations d'épuration biologiques et il est indispensable que les actions d'optimisation et de suivi du fonctionnement d'une installation, se basent sur ce paramètre. Il manque aujourd'hui d'outils opérationnels permettant une mesure directe de la biomasse active dans les bioréacteurs.

Le kit Total Control Biologique (TCB™) est une nouvelle technologie développée par LuminUltra™ (Canada). Le TCB™ mesure la concentration et la santé de la biomasse vivante à travers la quantification de l'Adénosine TriPhosphate intracellulaire. L'ATP intracellulaire est l'énergie stockée dans toute cellule vivante qui est dégradée, en quelques minutes, lorsqu'elle est libérée dans l'environnement. Par la mesure de l'ATP intracellulaire, contenu dans les échantillons de boue, on peut connaître, en quinze minutes, la quantité de biomasse active et son état de santé. Cette technique est aujourd'hui un des meilleurs indicateurs de mesure de la flore totale, permettant la mesure rapide, sans interférence, de la biomasse active dans une station d'épuration.

Le pilotage des concentrations d'ATP dans les bassins de traitement permet de disposer d'une alarme efficace pour détecter la dégradation des conditions opératoires d'une installation et la présence de toxicité dans l'effluent brut.

Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

Présentation de la technique d'ATP-métrie

La technique d'ATP-métrie permet **une mesure rapide de la concentration de la biomasse active dans l'eau.** L'ATP-métrie est basée sur l'assimilation par les microorganismes de l'Adénosine TriPhosphate qui est une molécule essentielle à la vie microbienne.
La molécule d'ATP (Adénosine TriPhosphate) est retrouvée dans tous les organismes vivants et est indicateur de l'activité métabolique et/ou de la concentration de la biomasse présente dans les échantillons environnementaux. L'ATP est un transporteur d'énergie situé à l'intérieur des cellules vivantes et impliqué dans toutes les fonctions biologiques, telles que la nutrition, l'entretien et la reproduction.
L'ATP est quantifiée par une réaction de bioluminescence. L'enzyme Luciférase catalyse la réaction entre la Luciférine (substrat), l'ATP (cofacteur) et l'oxygène, ce qui entraine une émission de lumière. Chaque molécule d'ATP consommée dans la réaction produit un photon de lumière. La production de lumière à partir de cette réaction est mesurée en utilisant un luminomètre. La quantité de lumière produite est directement proportionnelle à la quantité de biomasse active présente dans l'échantillon. Cette réaction est linéaire sur une grande échelle, ce qui permet la mesure notamment dans les stations d'épuration des eaux résiduaires.

$$\text{ATP} + \text{luciferine} + O_2 \xrightarrow[\text{luciferase}]{Mg^{++}} \text{AMP} + PP_i + \text{oxyluciferine} + \text{lumière}$$

La mesure de l'ATP est directement liée à la flore totale vivante : elle permet de connaître rapidement la concentration biologique, la santé et l'activité des microorganismes contenus dans un échantillon. Les résultats quantitatifs finaux sont obtenus seulement en quelques minutes.

Le kit Total Control Biologique, développé et fabriqué par Luminultra™, est une nouvelle génération de kits d'ATP-métrie. Ce kit est développé spécifiquement pour le suivi du fonctionnement des bassins d'épuration biologiques.

Les kits Total Control Biologique permettent :

- La surveillance en temps réel de la concentration de la flore microbienne (biomasse active) dans les bioréacteurs

- La détection anticipée des problèmes opérationnels et la prévention des baisses d'efficacité des traitements biologiques

- La surveillance et l'étude de la toxicité des effluents bruts.

Les avantages de ces kits :

- Réelle quantification dans une gamme de concentrations large
- Rapidité de l'analyse, avec résultats en 15min
- Résultats inter-comparables (différents jours, différents sites) grâce à la transformation du résultat en nanogrammes d'ATP
- Flexibilité d'utilisation avec possibilité de tests sur sites, portabilité de l'appareil et des réactifs, stockage des échantillons d'ATP sur 7 jours
- Stabilité des réactifs
- Justesse et reproductibilité des résultats avec seulement 10 % de coefficient de variation. La précision de la mesure est notamment due à la qualité des réactifs, permettant :
  - Mesure de la totalité de l'ATP extracellulaire
  - Mesure de la totalité de l'ATP total
  - Levée des inhibitions de la réaction de bioluminescence.
  - Réactifs d'extraction très performants pour libérer l'ATP intracellulaire
  - Etalonnage des résultats par l'Ultracheck™, étalon externe et calibré d'ATP

Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

Les kits Total Control Biologique et les paramètres analysés

Inclus dans le kit TCB™	Content
Luminase	*Enzyme réactif de Luciférase*
UltraCheck 1	*1ng / mL d'ATP standard*
UltraLyse 30	*Réactif d'extraction de l'ATP*
UltraLute	*Tampon de dilution du tATP*
LumiSolve	*Tampon stabilisant du dATP*

Le kit Total Control Biologique (TCB™) contient tous les réactifs nécessaires à effectuer l'analyse de 50 échantillons d'eau.

Le premier composant essentiel du kit est la Luminase™, complexe Luciférine/Luciférase, qui permet la mesure de l'ATP disponible dans l'échantillon. La Luminase™ utilisée dans les kits TCB™ a été développé afin de permettre, premièrement, une meilleure sensibilité du test pour des faibles concentrations en ATP et deuxièmement, d'éviter la saturation du signal dans les fortes valeurs d'ATP.

Le kit TCB™ a une gamme de quantification allant de 1 000 à 60 000 ng/ml d'ATP soit de 0.5 000 à 30 000 mg/L de biomasse sèche.

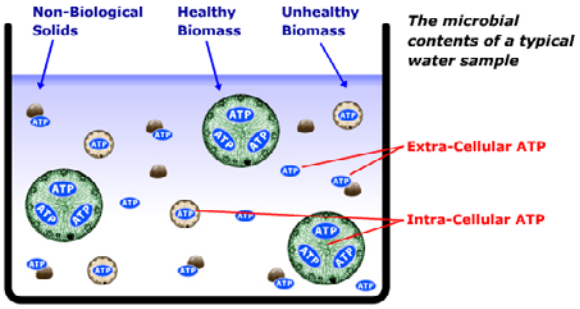
Le deuxième composant essentiel du kit est l'Ultracheck™ : étalon calibré de référence, contenant 1 ng/ml d'ATP. L'Ultracheck™ permet de calibrer la réaction enzymatique et de transformer les résultats analytiques en ng d'ATP. C'est seulement une fois que les résultats sont transformés en ng d'ATP qu'ils peuvent être comparés entre eux. L'Ultracheck™ permet également de vérifier la qualité de la Luminase™ avant les essais.

LES PARAMÈTRES MESURÉS AVEC LE KIT TCB

Au sein d'un échantillon d'eau contenant des microorganismes, il existe deux types d'ATP :

- L'ATP intra-cellulaire (cATP) c'est-à-dire l'ATP contenu dans les cellules vivantes. Le cATP représente la concentration de microorganismes vivants dans un échantillon
- L'ATP extra-cellulaire (dATP) c'est-à-dire l'ATP contenu à l'extérieur des cellules vivantes. ATP extracellulaire est issue des microorganismes stressés ou morts.

L'ATP total (tATP) est la somme de l'ATP intracellulaire et de l'ATP extracellulaire.



Les kits TCB™ développés par Luminultra™ sont les seuls outils permettant de quantifier les différentes formes sous lesquels l'ATP est présent dans l'eau : ATP intracellulaire, ATP extracellulaire, ATP total, ceci dans le but d'avoir une vision complète du vivant et de son état de santé dans un bioréacteur. Ils donnent également accès à d'autres paramètres tels le BSI (indice de stress de la biomasse) et l'ABR (ratio des matières en suspensions actives)

a) ATP Intra-cellulaire – cATP

L'ATP intra-cellulaire est la mesure du seul ATP, contenu dans les microorganismes vivants.

Afin de le rendre accessible le cATP à la réaction de bioluminescence, l'échantillon d'eau est soumis à une lyse bactérienne, qui permet de détruire les membranes cellulaires et de libérer le cATP. Dans la gamme de tests Total Control, le cATP™ est calculé par différence entre le dATP™ et le tATP™ (cATP = tATP - dATP).

La surveillance de l'ATP permet de quantifier en temps réel la biomasse active vivante et de suivre sa croissance sous des conditions optimales ou de détecter précocement l'inhibition de l'activité sous un environnement stressant ou des conditions opératoires défavorables. Dans un bioréacteur performant, le niveau de cATP observé doit être toujours stable et à un niveau optimal.

Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

b) Index de Stress de la Biomasse - BSI™

Le BSI représente le stress des microorganismes sous un environnement spécifique et des conditions opératoires défavorables. Il est lié à la mortalité des microorganismes. Le BSI est le rapport entre l'ATP extracellulaire issu des organismes morts et l'ATP total d'un échantillon d'eau. (BSI (%) = dATP/tATP)

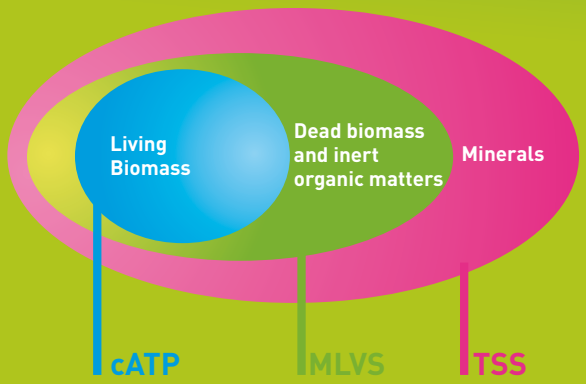
Quand les conditions opératoires se dégradent et deviennent défavorables pour les microorganismes vivants dans le bioréacteur, par exemple un stress, alors la mortalité augmente et le BSI croît également. Le suivi du BSI permet de détecter les problèmes opérationnels responsables de la dégradation de la qualité de l'eau. Le BSI est un paramètre important pour l'étude de la toxicité des effluents. Plus le BSI d'un effluent est élevé et plus il va perturber la biomasse active présente dans un bioréacteur.
Des protocoles spécifiques d'ATP-métrie sont disponibles pour évaluer la toxicité des effluents individuels ou des produits chimiques qui peuvent entraîner une baisse de l'efficacité du traitement des eaux en inhibant ou en tuant, tout ou une partie des microorganismes.

c) Rapport de Biomasse Active - ABR™

Le rapport de biomasse active (ABR™) est un paramètre de contrôle extrêmement important pour les processus de traitement biologique des eaux usées. **Le paramètre ABR définit dans un échantillon de biosolides, le pourcentage des solides totaux qui correspondent réellement à de la biomasse vivante.**
La valeur ABR correspond au rapport entre la concentration de biomasse vivante et la concentration en solides totaux :
ABR (%) = (cATP™ (ng/mL) * 0,5) / MES (mg/L)

La disponibilité de ce paramètre permet à l'opérateur de **mesurer et en conséquence de contrôler l'activité des biosolides contenus dans le bioréacteur.** Pour un grand nombre d'éléments, il est très bénéfique de **maximiser le rapport ABR** pour un processus de traitement biologique. L'amélioration de ce paramètre peut mener à une diminution des minéraux robustes ou d'organismes morts, n'apportant aucun bénéfice pour le fonctionnement de l'installation.

L'ATP-métrie est un outil de terrain performant, permettant de gérer et prévenir la dégradation du fonctionnement de l'installation, sur la base du seul paramètre pertinent qui est l'activité et la santé de la biomasse.



Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

Intérêt de l'ATP-métrie pour le suivi du fonctionnement des STEP

INTÉRÊT DU SUIVI DES PARAMÈTRES cATP, BSI ET ABR

L'ATP est la mesure de **l'énergie et de l'activité de la biomasse vivante d'un bioréacteur.** C'est un paramètre très pertinent à suivre dans une STEP car il apporte une vision directe de la biomasse active et de son état de santé. **L'ATP-métrie permet de gérer la station d'épuration et d'optimiser son fonctionnement en surveillant les paramètres cATP, BSI ou ABR :**

- cATP : maintenir stable la biomasse active dans un bioréacteur
- BSI : minimiser la toxicité des effluents entrants et les conditions de stress dans le bioréacteur
- ABR : optimiser la proportion de solides actifs

Sur la base de son expérience, Luminultra™ et Aqua-tools ont établit des seuils indicatifs de la qualité de la biomasse active dans les eaux :

Procédé	Parametre	Bonne qualité	Action préventive	Action corrective
Effluent entrant	BSI (%)	<50	50 to 75	>75
Bioreacteur	cATP (ng/ml)	Specific du procédé		
	BSI (%)	<30	30 to 50	>50
	ABR (%)	>25	10 to 25	<10
Eau traitée	cATP (ng/ml)	<50	50 to 250	>250

Les paramètres cATP, BSI et ABR permettent de piloter une station d'épuration et éviter toute dégradation de la qualité de l'eau de rejet en anticipant et détectant prématurément les dérives du fonctionnement de l'installation.

Le paramètre cATP va renseigner sur l'activité de la biomasse vivante, alors que le BSI informera sur son état de santé ou la présence de toxiques venant des effluents.

Un stress inférieur à 30% est normal pour une population bactérienne en bonne santé, mais son augmentation brusque ou progressive et le passage au-dessus de 50% sont indicatifs d'un phénomène perturbant le fonctionnement de l'installation et du biologique. Ceci est très représentatif d'un problème lié à des éléments toxiques liés aux effluents entrants. Le paramètre ABR, qui doit être optimisé pour être supérieur à 25%, indique le pourcentage de la biomasse active parmi les matières en suspension dans le bioréacteur. L'amélioration de ce paramètre peut conduire à une diminution des solides minéraux ou organiques mortes, n'apportant aucun bénéfice pour le fonctionnement de l'installation, et en ceci favoriser la diminution du volume total de boues rejetées.

CHAMPS D'APPLICATION DU KIT TCB™

Le kit TCB offre des multiples possibilités d'utilisation :

• Piloter l'installation grâce à l'ATP, qui est la seule vraie mesure de la biomasse vivante et donc non soumis à des interférences liées à la biodégradabilité des solides ou autres paramètres extérieurs.

- Cartographier une STEP (STation d'Épuration) pour **connaître** son fonctionnement
- Connaître **l'état de santé de la biomasse** active dans la station d'épuration
- Suivre et **gérer le fonctionnement** de la STEP sur la base de cATP, BSI et ABR
- Suivre la **qualité des effluents entrant** et leurs toxicités
- Optimiser **l'extraction des boues**
- Optimiser les conditions de fonctionnement de la station (nutriments, pH, oxygène)
- **Optimiser la consommation d'énergie**
- **Réduire les coûts des opérations**

• Prévenir les problèmes de dérive du fonctionnement de l'installation en les détectant précocement : Utiliser l'ATP comme une alarme précoce d'un problème d'exploitation.

- **Prévenir** la dégradation de l'eau de rejet en détectant tôt les problèmes de fonctionnement de la station
- Étudier la r**éponse de la biomasse** aux changements de production industrielle, ou la qualité des effluents entrant, toxiques
- Détecter en avance les problèmes liés à une toxicité des effluents entrants
- Étudier la **concentration maximale d'effluents à effet toxique** à introduire dans le bassin sans perturber son fonctionnement

• Suivre les actions d'amélioration du fonctionnement de l'installation

- Suivre le **réensemencement d'une station d'épuration**
- Suivre **l'efficacité des bioadditifs** (fungi) ou nutriments ajoutés dans les bassins biologiques
- Amélioration de la qualité des eaux de rejet en optimisant les paramètres de fonctionnement
- **Diminuer la quantité de boues produites**

Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

Principales utilisations de l'ATP-métrie sur les stations d'épurations

UTILISATION DE L'ATP POUR LA CARACTÉRISATION D'UNE STEP

Des données de 3 stations d'épuration de l'industrie papetière ont été cumulées et mises en parallèle. Ces données permettent de comparer entre elles le fonctionnement des 3 stations :

Usine	Usine de référence	Usine 1	Usine 2
Période de suivi	7 mois	7 mois	10 mois
Nombre de points ATP	64	71	103
BOD (T/d)	43,9	31,6	32,1
Volume (m^3)	17217	60000	44000
MES (mg/L)	7869	4226	4221
cATP (ng/mL)	5400	2140	1718
ABR(%)	35%	25%	20.8%
Charge massique (Kg/kg/d)	1,04	0,49	0,85
Index de volume de boue	76	144	175
BSI (%)	3,2%	19%	31,2%

Data provided by LunimUltra™

L'usine de référence reçoit la plus grande charge de DBO et a le plus court temps de rétention des boues. En résultat, elle montre les meilleurs caractéristiques en termes de biomasse active – concentration de biomasse active (cATP), proportion de solides actives (ABR) et indice de stress de la biomasse (BSI).

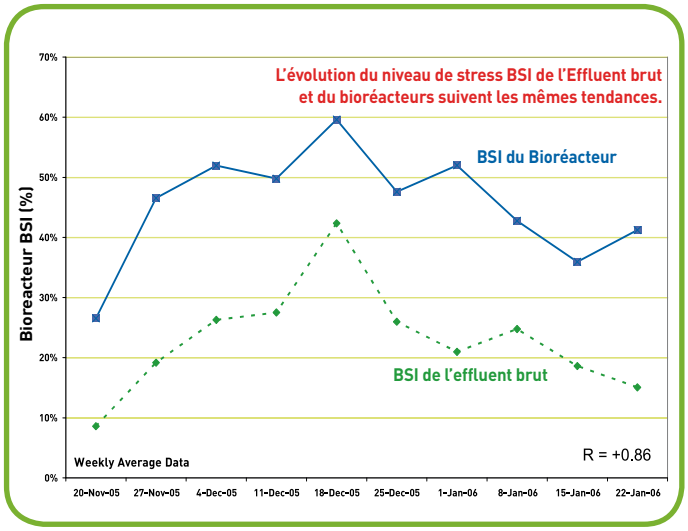
Ces données montrent que la technique ATP peut fiablement caractériser une installation et permettre de comparer des sites entre eux. Les données sont corrélées par rapport aux connaissances et les paramètres usuels de suivis d'une installation d'épuration des eaux usées.

UTILISATION DE L'ATP POUR L'ÉTUDE DE LA TOXICITÉ DES EFFLUENTS ENTRANTS

Le suivi du stress de la biomasse, sur les effluents entrants et sur les bioréacteurs, permet d'identifier l'origine de dysfonctionnement d'une station d'épuration. Les problèmes peuvent être causés par l'arrivée d'un effluent toxique dans le traitement d'eau ou par une dérive opérationnelle. Une surveillance parallèle des effluents et des bioréacteurs conduit à une distinction entre ces deux phénomènes et à la mise en place d'actions rapides et efficaces.

Un problème de dénitrification est survenu sur une station municipale recevant des eaux de rejets de la commune et d'un site industriel. Dans cette situation, il est essentiel de comprendre pourquoi le problème de dénitrification est survenu.

L'examen des courbes de BSI a permis de localiser la source de dérèglement au niveau de l'effluent entrant, car les courbes de BSI de l'effluent et du bioréacteur suivaient exactement les mêmes allures. Après une étude plus approfondie, les exploitants du site ont découvert qu'un accident de rejet anormal de métaux lourd a eu lieu au niveau du site industriel, ce qui était la cause du mauvais fonctionnement de la flore dénitrifiante.



Data provided by LunimUlttra™

Utilisation des kits Total Control Biologique (TCB™)

pour le suivi de l'activité biologique et le fonctionnement des stations d'épuration des eaux résiduaires

→ NOTE D'APPLICATION #3 - NOVEMBRE 2008

Une fois que l'origine du problème est identifiée et localisé (effluent ou bioréacteur), **deux actions** peuvent être mises en place :

• S'il s'agit d'un site déversant plusieurs effluents qui se mélangent au niveau d'un effluent entrant principal : **il est nécessaire d'identifier lequel est responsable du problème de toxicité**

• **Identifier la dose maximale de toxique** que la biomasse active est capable de dépolluer sans que son fonctionnement soit perturbé.

Dans les deux cas, dans des conditions expérimentales, un volume de boue et un volume d'effluent brut ou produit sont mélangés ensemble. La concentration de biomasse active et le stress de la biomasse seront mesurées à différents moments pour évaluer l'impact à court terme et à long terme de l'effluent (ou du produit) sur la flore microbienne composant le bioréacteur.

Ainsi, il est possible de classifier les effluents par leur toxicité et à terme de mettre en place des procédures de traitements différents des effluents les plus néfastes pour la biomasse active du bioréacteur.

Exemple d'étude de toxicité

	cATP - Concentration en biomasse active			BSI - Indice de stress de la biomasse		
Échantillons	T0	T30	T24	T0	T30	T24
1	2554,91	644,58	261,07	15,47%	34,23%	43,51%
2	2549,12	1231,13	1531,30	16,12%	46,04%	35,23%
6	2566,15	777,30	709,10	15,64%	59,99%	56,78%
Control	**2564,63**	**1953,93**	**910,50**	**15,61%**	**34,89%**	**46,62%**

Le produit 6 présente la **plus forte toxicité** envers la biomasse du bioréacteur. On observe une forte diminution de l'activité de la biomasse active. La mortalité est très forte (valeurs du paramètre BSI) à court terme (30 min) et à long terme (24h). Ce produit à une toxicité aigue avec un impact durable.

Le produit 1 présente une **toxicité modérée.** Le produit inhibe l'activité de la biomasse, par contre la mortalité n'est pas plus élevée que celle du témoin.

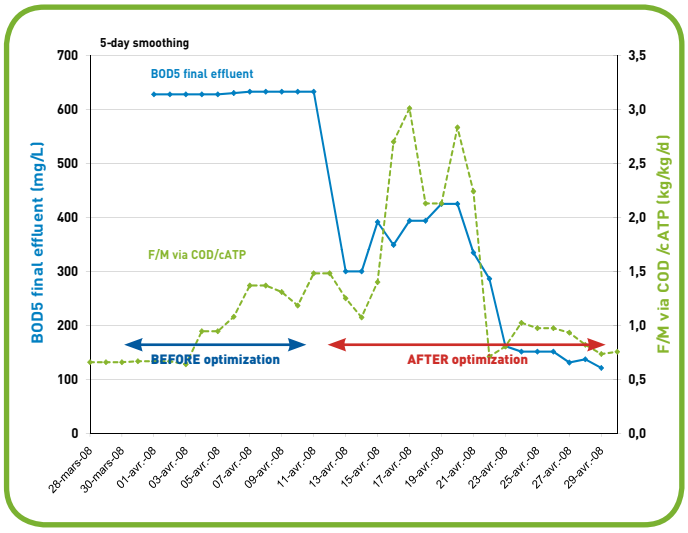
Le produit 2 n'est **pas toxique** pour la biomasse active du bioréacteur, celle-ci étant probablement habituée à dégrader ce produit.

CALCUL DE LA CHARGE MASSIQUE UTILISANT LE PARAMÈTRE cATP

Une très bonne corrélation est en générale observée entre le cATP du bioréacteur et la DCO ou la DBO5 sur l'eau à traiter. La pertinence du paramètre cATP permet de calculer la Charge massique en fonction de la concentration en biomasse vivante. Cette Charge massique via le cATP est un paramètre très utile pour le pilotage des installations.

Charge massique (kg/kg/j)	Exemple de seuils effectif
COD/cATP	1,24 ± 1,18
BOD5/ATP	0,43 ± 0,14

On peut déterminer des seuils de charge massique via le cATP. Des valeurs cibles de charge massique peuvent contribuer à l'optimisation des valeurs de DBO5 dans l'eau traitée.



Comme la DBO5 est un paramètre disponible dans un intervalle de 5 jours, la DCO peut être utilisé pour le calcul de la charge massique. Quand la proportion de la charge massique est à son optimum (l'exemple ci-dessous), le DBO5 dans l'eau traitée est correcte.

Pourquoi utiliser le cATP pour calculer la charge massique ?

Le cATP est un indicateur précis de la biomasse vivante. Le changement de cATP peut indiquer la capacité de l'installation à traiter l'effluent et empêcher une dérive sur l'eau traitée. Ce paramètre est une alarme et donne la possibilité d'adapter rapidement la concentration de biomasse active pour corriger la situation

Aqua-tools est spécialisé dans :

→ La commercialisation de kit d'ATP-métrie pour **la quantification rapide des microorganismes**
→ L'audit et l'expertise pour le contrôle microbiologique de la qualité de l'eau dans les réseaux d'eau
→ Des programmes de formation sur les analyses et le pilotage des risques biologiques dans les eaux sanitaires et les tours de refroidissement.

La nouvelle génération de kit d'ATP-métrie, commercialisée par Aqua-tools, est basée sur la bioluminescence et permet des mesures sur le terrain en moins de 10 minutes pour une meilleure réactivité pour la mise en place d'action préventive et corrective.

Les champs d'applications des kits sont les suivantes :

→ **Tours de refroidissement**
→ **Production et distribution d'eau potable**
→ **Eau pure et eau ultra pure**
→ **Fluides de coupe et eaux chargées en huiles**
→ **Bain de cataphorèse**
→ **Suivi du fonctionnement des stations d'épuration**
→ **Eaux sanitaires**
→ **Eau de process**
→ **Biofilm**
→ **Huile & gaz**
→ **Traitement de surface**
→ **Eau de réutilisation**

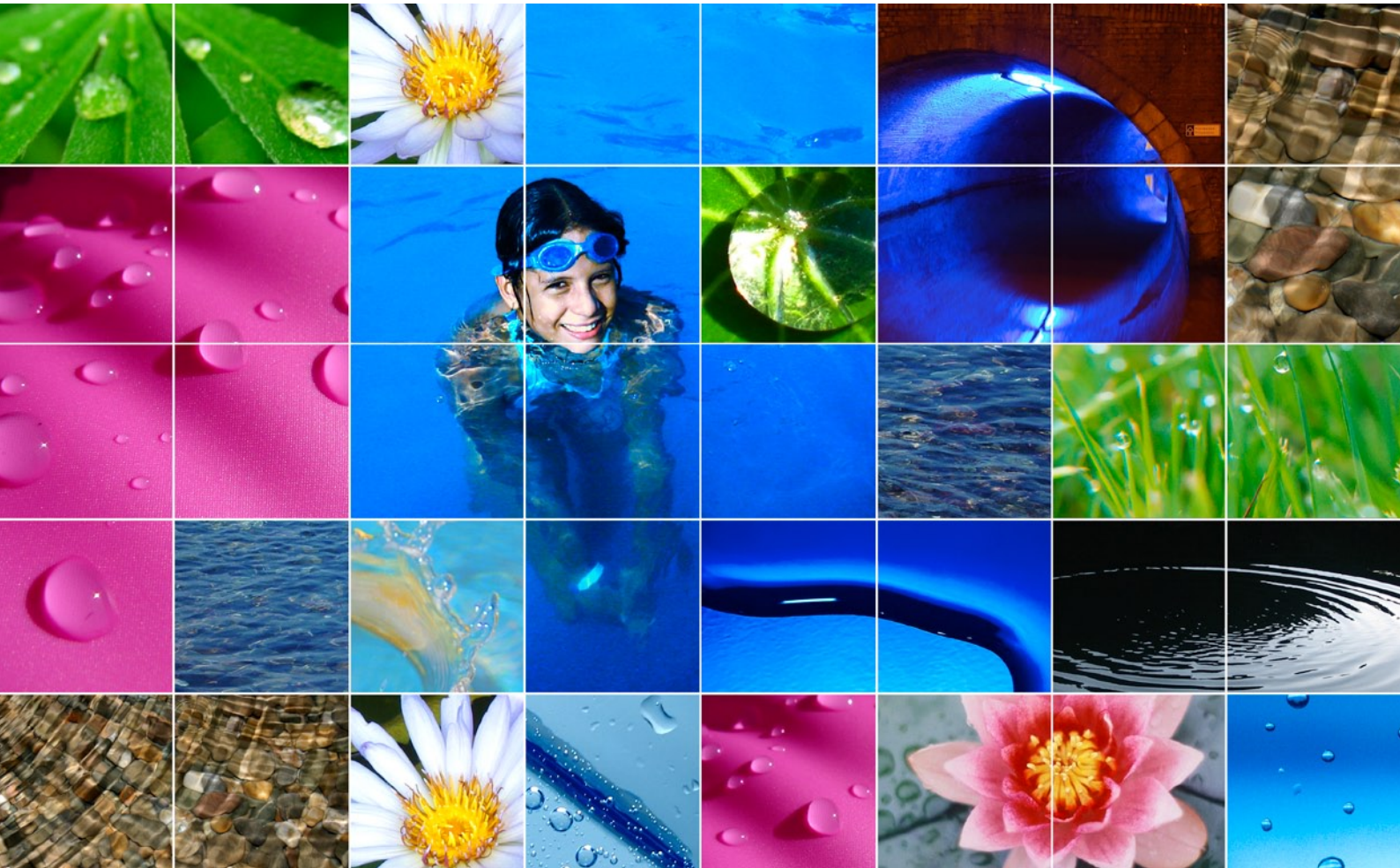
→ **Autres...**

Other Application Notes available :

#1
Water testing
Use of Quench-Gone™ Aqueous Kits as a tool to set up Risk Analysis and Routine Surveillance Programs for Sanitary Water and Cooling Tower Systems in Hospitals, Spa

#2
ATP-metry technology for Autocontrol of Cooling Circuits

aqua-tools.com

Domaine de la Brissette
36 rue de La Falaise
F- 78126 Aulnay-sur-Mauldre (Yvelines)
+33 1 30 95 79 50
contact@aqua-tools.com
www.aqua-tools.com

laurent.dupuis@estampes.com 12-2008