



HAL
open science

Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC

Catherine Boutin, Vivien Dubois

► **To cite this version:**

Catherine Boutin, Vivien Dubois. Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC. [Rapport de recherche] irstea. 2012, pp.47. hal-02597499

HAL Id: hal-02597499

<https://hal.inrae.fr/hal-02597499>

Submitted on 15 May 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Partenariat 2011 – Domaine Ecotechnologies et pollutions
Action 26 « Amélioration des performances des installations d'assainissement non collectif »



Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC

Rapport final

Catherine BOUTIN et Vivien DUBOIS
Irstea

Mars 2012

Avec les partenaires :

Natacha PORTIER, Conseil Général du Rhône

Contexte de programmation et de réalisation

Suite aux évolutions récentes tant réglementaires que normatives, la diversité des filières désormais autorisées pour répondre aux besoins de l'Assainissement Non Collectif est en très forte croissance. Ces filières font appel, le plus souvent, à des processus de traitement de type biologique aérobie. La manière dont les bactéries sont en contact avec les eaux à traiter constitue un point de différenciation, c'est pourquoi l'on distingue les filières dans lesquels les bactéries sont en suspension dans l'eau (cultures libres) des filières garnies d'un matériau support au développement bactérien (cultures fixées). Ces dernières sont de développement assez ancien et constituent un parc important, certainement le plus nombreux.

Afin d'évaluer les performances de ce parc d'installations encore peu connu, on cherche à développer un outil simple. C'est dans ce contexte que ce programme autour de l'usage des bandelettes azotées s'est développé.

La présente étude a été réalisée par une étudiante stagiaire de niveau Master 2 de l'université d'Orléans, Manon BROUILLON, lors de son stage de fin d'études à Irstea, centre de Lyon. Son travail consciencieux sert de base à la rédaction de ce document. Qu'elle trouve ici nos remerciements et reconnaissance.

Les auteurs

Catherine BOUTIN
Ingénieur traitement des eaux usées
Email : catherine.boutin@irstea.fr
Irstea Lyon

Vivien DUBOIS
Ingénieur traitement des eaux usées
Email : vivien.dubois@irstea.fr
Irstea Lyon

Les correspondants

Onema : Stéphane Garnaud, Direction de l'Action Scientifique et Technique, stephane.garnaud@onema.fr

Irstea : Catherine Boutin, centre de Lyon, catherine.boutin@irstea.fr

Droits d'usage :	Libre
Couverture géographique :	Nationale
Niveau géographique :	National
Niveau de lecture :	Professionnels, experts, décideurs
Nature de la ressource :	Rapport final

Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC

Rapport final

C. BOUTIN et V. DUBOIS

Sommaire

RESUME	4
SYNTHESE POUR L'ACTION OPERATIONNELLE.....	6
LISTE DES FIGURES	11
LISTE DES TABLEAUX.....	11
CONTEXTE ET OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	12
1 BANDELETTES AZOTEES.....	13
1.1 PRINCIPE DES REACTIONS	13
1.2 DOMAINES DE MESURES.....	13
1.3 APPLICATION DE LA METHODE.....	14
1.4 SITES ETUDIES	15
2 RESULTATS	16
2.1 VALIDATION DES BANDELETTES EN LABORATOIRE	16
2.2 IMPACT DU MODE DE PRELEVEMENT	18
2.3 VALIDATION DES BANDELETTES SUR LE TERRAIN	19
2.4 AMELIORATION DE LA METHODE DE MESURE DES NITRATES	22
2.4.1 <i>Interférences avec les nitrites sur la lecture des nitrates.....</i>	<i>22</i>
2.4.2 <i>Neutralisation des nitrites avec l'ajout d'acide amidosulfonique</i>	<i>25</i>
2.5 CALCUL DES ERREURS CUMULEES	27
3 COMMENT UTILISER CES OUTILS ?.....	28
3.1 LIENS ENTRE LES REJETS AZOTES ET UN PARAMETRE CARACTERISANT LA QUALITE D'EPURATION.....	28
3.2 INDICATEUR DE LA SANTE DES FILTRES.....	30
CONCLUSION	33
REFERENCES.....	35
LISTE DES ANNEXES	36

Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC

Rapport final

C. BOUTIN et V. DUBOIS

RESUME

L'objectif de cette étude est d'élaborer un protocole de suivi allégé fournissant un premier indicateur des performances d'un système d'ANC en place, plus particulièrement des dispositifs à cultures fixées sur supports fins, où l'oxygénation du milieu filtrant permet l'oxydation des ions ammonium en nitrates. De ce fait, la quantification des rejets azotés est un bon indicateur de la santé d'un système épuratoire. Il s'agit donc de déterminer si le couple de bandelettes "ammonium" et "nitrate" est un outil fiable pour quantifier ces rejets azotés.

Afin de s'assurer de la validité de cette méthode, les bandelettes ont été testées en laboratoire grâce à une gamme d'étalonnage. Les valeurs obtenues avec les bandelettes ont été comparées aux valeurs données par des méthodes chimiques normées (valeur de référence). Les résultats ont été très satisfaisants pour le couple de bandelettes. Des mesures ont également été réalisées sur des échantillons provenant de trois dispositifs d'ANC. Les analyses sur le terrain ont été pratiquées sur des prélèvements ponctuels : c'est ainsi que la représentativité des prélèvements ponctuels par rapport aux bilans moyens sur 24 h a été vérifiée. L'écart entre une concentration obtenue à partir d'un prélèvement ponctuel par rapport à un bilan sur 24 h asservis au temps est de 21 % pour les ions ammonium et de 26 % concernant la mesure des nitrates. Ces écarts liés aux modes de prélèvement sont non négligeables et sont pris en compte dans le calcul d'erreur cumulée de la lecture par bandelette. Les mesures sur le terrain ont donné des résultats satisfaisants pour les bandelettes « ammonium » et l'erreur cumulée liée à la méthodologie est de 48 %. En revanche des interférences avec des ions nitrites ont entraîné d'importantes erreurs pour l'analyse des ions nitrates. L'erreur cumulée concernant la mesure des nitrates s'élève à 60 % lorsque la proportion de nitrites par rapport aux nitrates est négligeable. Afin de neutraliser les nitrites, de l'acide amidosulfonique doit être ajouté dès que la coloration de la zone indicatrice des nitrites se colore (lecture grâce aux bandelettes).

Enfin, des relations ont été établies entre la DBO₅ et les rejets azotés. Les résultats montrent, malgré l'existence d'un lien entre le résiduel en matières organiques et les teneurs azotées, que les analyses bandelettes ne sont pas suffisamment précises pour définir une qualité de rejet quantifiée à l'aide du paramètre DBO₅. En revanche, un abaque, délimitant quatre secteurs de fonctionnement d'une filière par Cultures Fixées sur Support Fin en ANC a été réalisé. Les bandelettes peuvent être utilisées comme un indicateur de santé de ces filtres.

MOTS CLES : Ammonium, Assainissement Non Collectif, Nitrates, Nitrites

Use of test strips to measure nitrogen discharges and estimate the quality of On Site Wastewater Treatment System (OSWTS) operation

Final report

C. BOUTIN and V. DUBOIS

ABSTRACT

The aim of this study is to elaborate a light protocol of On Site Wastewater Treatment System (OSWTS) follow-up that supplies with a first indicator of their performances. This study mainly focuses on aerobic attached growth processes. The oxygenation of the media allows the reduction of the ions ammonium in nitrates. Therefore, the quantification of the nitrogenous discharge is a good indicator of the efficiency of the treatment system. Is the couple of "ammonium" and "nitrate" test strips a reliable tool to quantify these nitrogenous discharges?

To verify it, strips were tested in laboratory for calibration and comparison with standardized chemical methods (reference value) with solution having concentrations varying over a large range. The results were very satisfactory for the couple of test strips. Measures were also done on samples coming from three OSWTS. Analyses were carried out on punctual samples. The representativeness of the punctual samples with regard to a balance over 24 hours in time sample was verified. The error of concentration obtained from a punctual sample with regard to a balance over 24 hours in time sample is of 21 % for the ions ammonium and of 26 % concerning the measure of nitrates. These errors connected to the sampling are significant and have to be taken into account in the calculation of error accumulated by the reading of the test strips. The *in situ* measures gave satisfactory results for "ammonium" test strip and the accumulated error connected to the methodology is 48 %. On the other hand, there are interferences between nitrites and nitrates ions. The accumulated error concerning the measure of nitrates is to 60 % when the proportion of nitrites with regard to nitrates is low. The analysis of the nitrates need to be adapted if the tint of the indicator zone of nitrites is colored. To neutralize nitrites, some amidosulfonique acid must be added.

Finally, relations were established between the BOD₅ and the nitrogenous discharges. Despite a correlation between nitrogenous forms and organic matter residual was found, test strips are not precise enough to define the parameter DBO₅ in the discharge.

On the other hand, an abacus, bounding four sectors of functioning of OSWTS was built. Test strips can be used as an indicator of the "health" of aerobic biological attached growth filters

KEYS WORDS : Ammonium, Nitrates, Nitrites, On Site Wastewater Treatment System

Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC

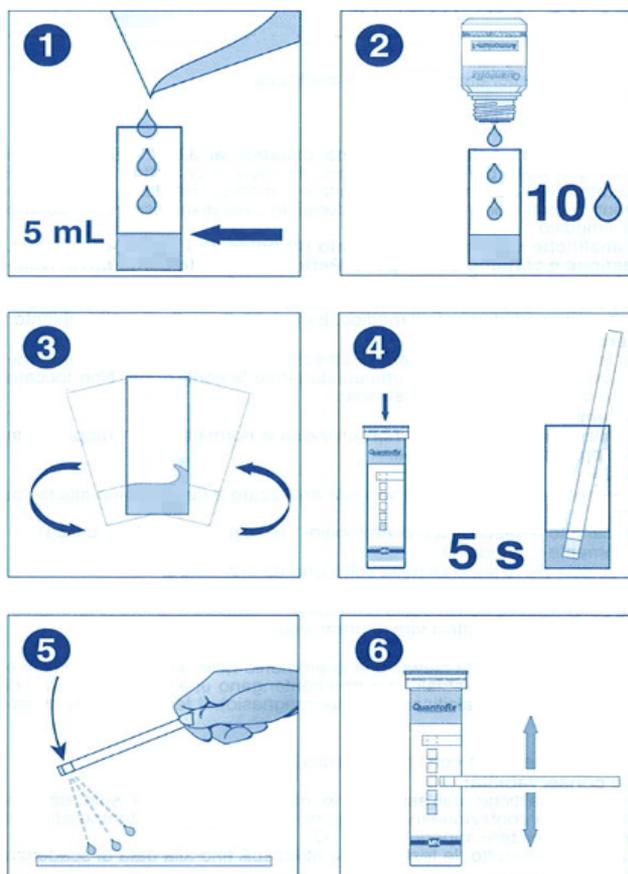
Rapport final

C. BOUTIN et V. DUBOIS

Synthèse pour l'action opérationnelle

L'étude sur la pertinence de l'outil bandelette pour mesurer les paramètres azotés dans les rejets de dispositifs d'ANC par cultures fixées sur support fin a découlé sur une méthodologie de détermination de la santé de ces filières où le traitement s'effectue en aérobie. Les modes opératoires de détermination des concentrations en ammonium et nitrates en mg.L^{-1} par les bandelettes Quantofix commercialisées par Macherey-Nagel sont décrits dans la notice imagée ci dessous. Ce sont les seules bandelettes testées dans cette étude.

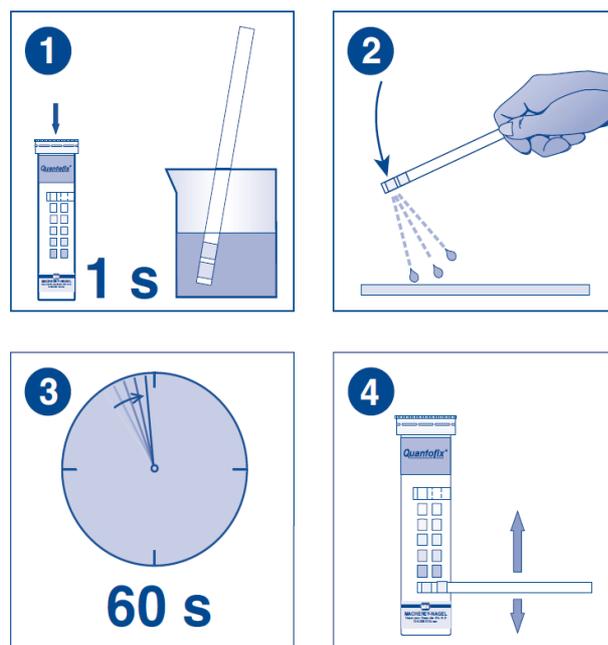
Mesure des ions ammonium



Mode d'emploi :

1. Rincer le récipient gradué avec la solution d'essai et le remplir jusqu'à la marque de graduation à 5 mL.
2. Ajouter 10 gouttes d'ammonium-1 (lessive de soude) à l'échantillon.
3. Agiter l'échantillon avec précaution.
4. Immerger la languette test dans l'échantillon pendant 5 secondes.
5. Éliminer l'excédent de liquide en secouant la languette.
6. Comparer la couleur de la zone test avec l'échelle colorimétrique. En présence d'ions ammonium, le papier test prend une teinte orange.

Mesure des nitrates



Mode d'emploi :

1. Immerger la languette avec ses deux zones de test pendant 1 s dans l'échantillon (pH 1 à 9).
2. Éliminer l'excédent de liquide en secouant.
3. Attendre 60 s.
4. Comparer avec l'échelle colorimétrique. En présence d'ions de nitrate, la zone de test au bout de la languette vire au rouge-violet. La zone de test juste au-dessus indique la concentration de nitrite.

Précautions supplémentaires concernant la lecture des nitrates

Il est préférable d'utiliser un bécher et de réaliser l'analyse dans celui-ci afin de ne pas souiller l'échantillon. Les bandelettes « nitrate » permettent également de mesurer la concentration en nitrites. Dans le cas où la zone indicatrice des nitrites se colore (rose à violet), il faut recommencer le test « nitrates » ; la présence de nitrites biaise la mesure des nitrates. Pour cela, renouveler le volume d'échantillon et ajouter une microcuillère d'acide amidosulfonique avant d'immerger la bandelette. Les instructions (volume d'échantillon de 10 ml, dissolution de l'acide, réaction de 5 minutes, avant lecture) figurent dans la notice du complément méthodologique.

Lecture

La couleur de la zone indicatrice est comparée à l'échelle colorimétrique. L'interprétation par un opérateur inexpérimenté consiste à donner les valeurs hautes (H) et basses (B) des concentrations (déterminées selon l'échelle colorimétrique). La concentration est affinée en fonction de l'intensité de la couleur de la zone indicatrice et de sa proximité marquée vers la valeur basse (B) ou haute (H). Les concentrations, exprimées en mg.L^{-1} d'ammonium ou nitrates, sont ainsi obtenues à l'aide des grilles de lecture ci-après.

Concentrations (mg.L^{-1}) en ammonium (NH_4^+) / azote ammoniacal ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)				
Echelle colorimétrique	NH_4^+		$\text{NH}_4^+\text{-N}$ = $0,778 * \text{NH}_4^+$	
	moyenne	moyenne intermédiaire		
		(B)		(H)
0			0	
2,5		2,5	1,9	
5	5		3,9	
7,5		7,5	5,8	
10			7,8	
13,75		13,75	10,7	
17,5	17,5		13,6	
21,25		21,25	16,5	
25			19,5	
31,25		31,25	24,3	
37,5	37,5		29,2	
43,75		43,75	34,0	
50			38,9	
62,5		62,5	48,6	
75	75		58,4	
87,5		87,5	68,1	
100			77,8	
125		125	97,3	
150	150		116,7	
175		175	136,2	
200			155,6	
250		250	194,5	
300	300		233,4	
350		350	272,3	
400			311,2	

Exemple de lecture : la couleur de la zone indicatrice indique une concentration en ammonium comprise entre 10 et 25 mg.L^{-1} mais plus proche de 25 mg.L^{-1} . Alors la valeur est considérée supérieure à la moyenne de la fourchette : $(10+25)/2 = 17,5 \text{ mg.L}^{-1}$. La valeur retenue est au centre de la fourchette 17,5---25 soit 21,25 mg.L^{-1} en ammonium. Pour convertir, si besoin, en N-NH_4^+ cette concentration mesurée en NH_4^+ , il suffit d'utiliser le facteur multiplicatif : 0,778. Le résultat devient $21,25 * 0,778$ soit 16,5 mg.N.L^{-1} .

Concentration en nitrate (NO ₃ ⁻) / azote nitrique (mg.L ⁻¹)				Concentration en nitrite (NO ₂ ⁻) / azote nitreux (mg.L ⁻¹)			
NO ₃ ⁻		NO ₃ ⁻ -N = 0.226 * NO ₃ ⁻		NO ₂ ⁻		NO ₂ -N = 0.304 * NO ₂ ⁻	
Echelle colorimétrique	moyenne	moyenne intermédiaire		Echelle colorimétrique	moyenne	moyenne intermédiaire	
	(B)	(H)		0		(B)	(H)
0			0	0			0
2,5		2,5	0,6			0,3	0,1
5	5		1,1		0,5		0,2
7,5		7,5	1,7			0,8	0,2
10			2,3	1			0,30
13,75		13,75	3,1			2	0,6
17,5	17,5		4,0		3		0,9
21,25		21,25	4,8			4	1,2
25			5,7	5			1,52
31,25		31,25	7,1			6,3	1,9
37,5	37,5		8,5		7,5		2,3
43,75		43,75	9,9			8,8	2,7
50			11,3	10			3,04
62,5		62,5	14,1			12,5	3,8
75	75		17		15		4,6
87,5		87,5	19,8			17,5	5,3
100			22,6	20			6,08
137,5		137,5	31,1			25	7,6
175	175		39,6		30		9,1
212,5		212,5	48			35	10,6
250			56,5	40			12,2
312,5		312,5	70,6			50	15,2
375	375		84,8		60		18,2
437,5		437,5	98,9			70	21,3
500			113	80			24,3

Interprétation

Une installation de type « Cultures Fixées sur Support Fin » est performante quand elle nitrifie, c'est à dire lorsque les bactéries oxydent les ions ammonium en nitrates. Par conséquent, d'un point de vue technique, il est logique que la concentration en nitrates dans les eaux usées traitées soit supérieure à celle des ions ammonium. Dans le cas contraire, cela indique un manque d'oxygène, consécutif à une mauvaise circulation de l'air soit du fait des dispositions constructeur, soit du fait d'une réduction de la porosité du média par le développement bactérien. Quelle qu'en soit l'origine, l'absence d'oxygène conduit au colmatage plus ou moins rapide par des bactéries anaérobies. La mesure des ions azotés en sortie de traitement permettrait de déceler ce type de dysfonctionnement.

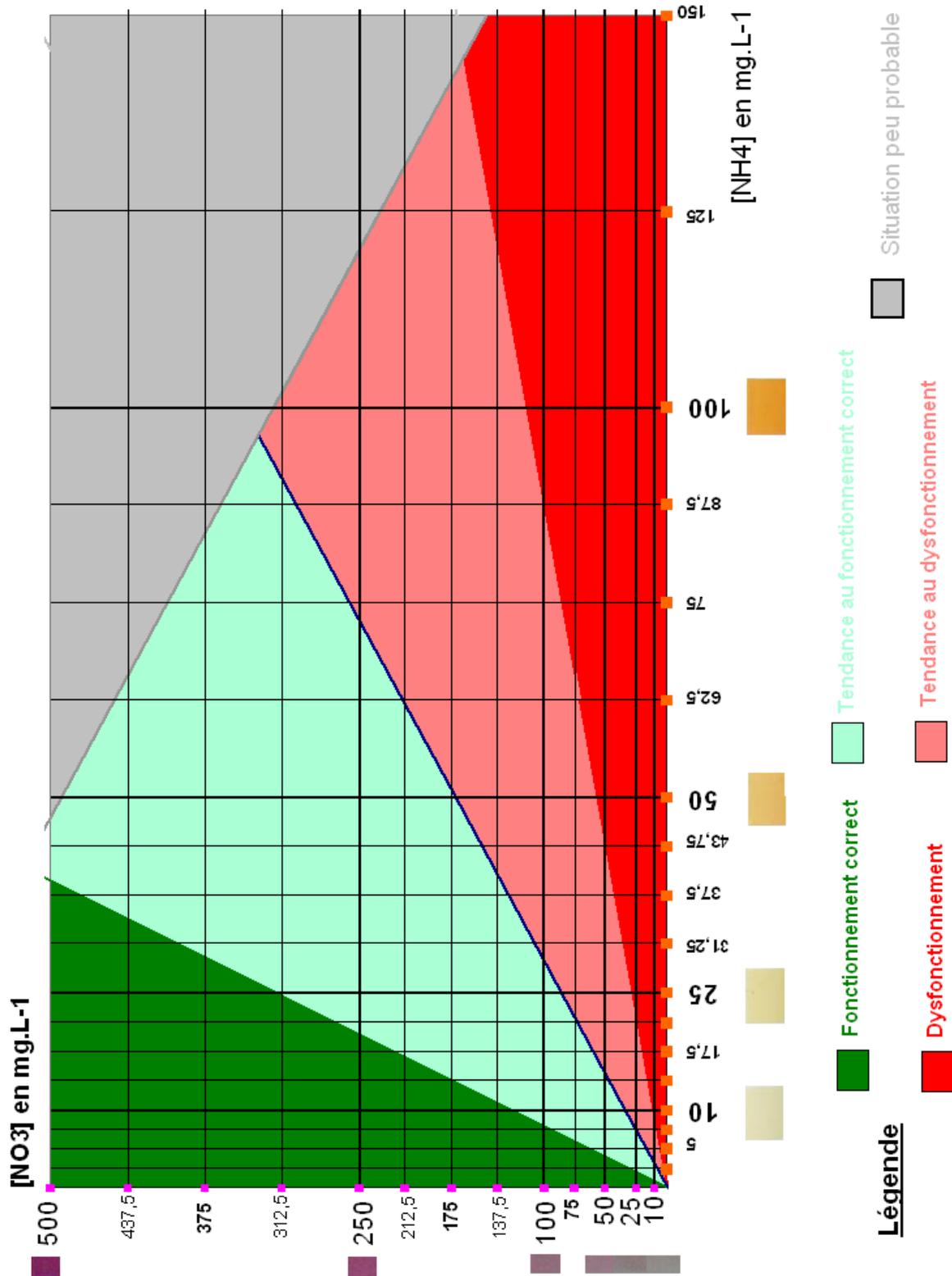
Le couple de points (NH₄⁺ et NO₃⁻) est positionné sur l'abaque mentionné ci-après. Il se situe dans l'un des 4 secteurs caractérisant :

- une zone de fonctionnement correct,
- une zone de tendance au fonctionnement correct,
- une zone de tendance au dysfonctionnement ou
- une zone de dysfonctionnement,

Les concentrations sont exprimées en mg/L de NH₄⁺ et NO₃⁻ (et pas en N-NH₄⁺ et N-NO₃⁻)

Pour plus d'information, se reporter au document : BOUTIN C. et DUBOIS V. (2011) : Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC, *Rapport ONEMA*, 35 p + annexes

Indication de santé des massifs filtrants
Cultures Fixées aérobies sur Support Fin



Liste des abréviations

AFNOR	Association Française de NORmalisation
ANC	Assainissement Non Collectif
CFSF	Cultures Fixées Sur Supports Fins
DBO₅	Demande Biologique en Oxygène durant 5 jours
DCO	Demande Chimique en Oxygène
EH	Equivalent Habitant
FTE	Fosse Toutes Eaux
GRAIE	Groupe de recherche Rhône Alpes sur les Infrastructures et l'Eau
MES	Matières En Suspension
ONEMA	Office National de l'Eau et des Milieux Aquatiques
SPANC	Service Public d'Assainissement Non Collectif
STEP	Station d'épuration
UV	Ultra Violet

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Composition du kit de bandelettes « ammonium » et tube de bandelettes « nitrate-nitrite » ...	14
Figure 2. Zoom sur une boîte de bandelettes « nitrate-nitrite ».....	15
Figure 3. Droite d'étalonnage en azote ammoniacal.....	16
Figure 4. Droite d'étalonnage en azote nitrique.....	17
Figure 5. Comparaison du mode de prélèvement sur la concentration en azote ammoniacal sur les deux sites.....	18
Figure 6. Comparaison du mode de prélèvement sur la concentration en azote nitrique sur les deux sites	19
Figure 7. Régressions linéaires entre les valeurs de référence et les bandelettes pour la mesure de l'azote ammoniacal.....	20
Figure 8. Régressions linéaires entre les valeurs de référence et les bandelettes pour la mesure de l'azote nitrique	20
Figure 9. Représentation de l'erreur des bandelettes « ammonium » par rapport à la concentration en azote ammoniacal mesurée par l'opérateur 1	21
Figure 10. Représentations de l'erreur des bandelettes « nitrate » par rapport à la concentration en azote nitrique mesurée par l'opérateur 1 (2 ^{ème} figure : zoom de la 1 ^{ère} figure).....	22
Figure 11. Représentation de l'erreur des bandelettes « nitrate » par rapport à la concentration en azote nitreux mesurée par une méthode chimique normée.....	23
Figure 12. Représentation de l'erreur des bandelettes « nitrate » par rapport à la proportion d'azote nitreux par rapport à l'azote nitrique.....	23
Figure 13. Régression linéaire en azote nitreux.....	24
Figure 14. Interférences des nitrites sur la lecture des nitrates avec les bandelettes	24
Figure 15. Régression linéaire entre les bandelettes « nitrate » avec l'ajout d'acide et les valeurs de référence.....	25
Figure 16. Erreur entre les bandelettes « nitrate » et la référence en fonction de la proportion de nitrites par rapport aux nitrates.....	26
Figure 17. Zoom de la figure 16. erreur entre les bandelettes « nitrate » et la référence en fonction de la proportion de nitrites par rapport aux nitrates	26
Figure 18. Régression entre la DBO ₅ et les ions ammonium.....	29
Figure 19. Régression entre la DBO ₅ et les ions nitrate.....	29
Figure 20. Représentation des zones de concentrations des formes azotées pour une concentration en DBO ₅ donnée.....	30
Figure 21. Graphe d'étalonnage permettant de juger de la qualité de fonctionnement d'une installation	31
Figure 22. Concentrations en rejets azotés (en mg.L ⁻¹ de N) quantifiées à l'aide des bandelettes par l'opérateur 1.....	32

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Correspondances en N des composés mesurés.....	13
Tableau 2. Exemple de détermination de la concentration en nitrates à partir de l'échelle colorimétrique.....	15
Tableau 3. Récapitulatif des installations étudiées.....	15
Tableau 4. Vérification de quelques concentrations dans la gamme d'étalonnage nitrate et ammonium	17
Tableau 5. Calculs d'erreurs concernant les bandelettes « ammonium » pour chaque site et chaque opérateur en %	27
Tableau 6. Calculs d'erreurs concernant les bandelettes « nitrate » pour chaque site et chaque opérateur en %	27
Tableau 7. Calculs d'erreurs, en %, concernant la mesure des nitrates lorsque $[\text{NO}_2^- \text{-N}] / [\text{NO}_3^- \text{-N}] < 25$ %.....	28
Tableau 8. Intervalles i_1 et i_2	29
Tableau 9. Intervalles I_1 et I_2	29

Utilisation de bandelettes pour la mesure des rejets azotés et l'estimation du fonctionnement de certains dispositifs d'ANC

Rapport final

C. BOUTIN et V. DUBOIS

Contexte et objectifs de l'étude

Irstea a été chargé par l'ONEMA, d'élaborer un protocole de suivi allégé fournissant un premier indicateur des performances d'un système d'ANC en place. Il s'agit de fournir aux SPANC un outil simple d'investigation et d'estimation, leur permettant, à terme, de mieux déceler d'éventuels dysfonctionnements.

Le couple de bandelettes "ammonium" et "nitrate-nitrite" est un outil simple d'utilisation. Les ions ammonium et nitrate mesurés dans les eaux usées traitées sont considérés comme des indicateurs caractéristiques de la bonne oxygénation des filières par Cultures Fixées sur Support Fin (CFSF). D'après une évaluation à partir de données du GRAIE dans la région Rhône-Alpes, on estime à au moins 85% le nombre de sites d'ANC répondant à la terminologie CFSF (Boutin C., 2011)., Dans les dispositifs CFSF, les bactéries oxydent les ions ammonium en nitrates grâce à l'oxygène présent dans les interstices du milieu filtrant. Une installation est jugée performante lorsque la concentration en nitrates dans le rejet est très élevée¹. Inversement, une concentration élevée en ions ammonium dans les eaux usées traitées indique un manque d'oxygène qui peut conduire, à plus ou moins long terme, au colmatage du média filtrant. Les risques de colmatage des CFSF peuvent donc, en première approche, être évalués par les concentrations en ammonium et nitrates.

Les concentrations en éléments azotés sont de très bons indicateurs de la performance d'un système épuratoire. Mais les mesures, fournies par une lecture bandelettes sont elles fiables ?

Le premier objectif du document est la validation de la méthodologie de la mesure de formes azotées par les bandelettes en s'appuyant sur des essais effectués :

- sur des solutions synthétiques en laboratoire,
- et, sur des prélèvements d'eaux usées traitées de trois sites d'ANC.

Les résultats, obtenus avec les bandelettes, sont comparés avec des méthodes chimiques normées. Dans un même temps, il faut évaluer la représentativité des prélèvements ponctuels par rapport aux bilans moyens sur 24 h et établir le niveau de biais induit par ce prélèvement instantané.

Le deuxième objectif est de proposer une interprétation de la lecture des valeurs obtenues par les méthodes bandelette vis à vis d'un éventuel lien avec le paramètre DBO₅.

Le troisième objectif est de proposer une interprétation de la lecture des valeurs obtenues par les méthodes bandelettes en tant qu'« indicateur de santé » du filtre permettant de mieux cerner des risques de colmatage.

¹ Cet équilibre, valable en absence de dénitrification, correspond aux conditions aérobies de CFSF.

1 Bandelettes azotées

1.1 Principe des réactions

Bandelettes "ammonium" (NH₄⁺)

Le principe repose sur la méthode de Nessler. Le réactif de Nessler (iodo-mercurate de potassium alcalin) en présence d'ions ammonium est décomposé avec formation d'iodure de di-mercure-ammonium, ce qui se traduit par une modification de la couleur de la zone indicatrice (jaune clair à orange brun).

Bandelettes "nitrate-nitrite"

Elles permettent la mesure simultanée des ions nitrite et nitrate grâce à deux zones indicatrices distinctes :

- Zone "nitrites" (NO₂⁻) : zone la plus proche de la partie non immergée.
Les nitrites diazotent en milieu acide avec le sulfanilamide ou l'acide sulfanilique et forment un sel de diazorium. Ce sel, couplé avec une amine aromatique, forme un colorant azoïque rouge, qui se traduit par une modification de la couleur de la bandelette qui se décline du blanc au rouge-violet.
- Zone "nitrates" (NO₃⁻) : zone à l'extrémité de la partie immergée.
Les nitrates sont réduits en nitrites par un réducteur. Puis ces derniers forment un colorant azoïque rouge après diazotation et couplage avec une amine aromatique. L'échelle de couleur se décline de blanc à rouge-violet.

1.2 Domaines de mesures

Bandelettes "ammonium"

Le domaine de mesure s'étend de 10 à 400 mg.L⁻¹ en ammonium avec les paliers de concentrations suivants : 0, 10, 25, 50, 100, 200, 400 mg.L⁻¹.

Bandelettes "nitrate-nitrite"

Elles ont un domaine de mesure allant de 10 à 500 mg.L⁻¹ en nitrates avec les niveaux suivants : 0, 10, 25, 50, 100, 250, 500 mg.L⁻¹. Elles permettent aussi de donner une concentration indicative en nitrites de 1 à 80 mg.L⁻¹, avec 6 niveaux : 0, 1, 5, 10, 20, 40, et 80 mg.L⁻¹.

Les bandelettes fournissent des valeurs exprimées en mg.L⁻¹ de NO₃⁻, NO₂⁻ ou NH₄⁺. Pour les comparer entre elles, il est nécessaire de transformer en N (élément « azote »). Le facteur correctif pour chaque ion se calcule à partir du ratio de la masse molaire de l'azote sur la masse molaire de l'ion considéré. Le Tableau 1 définit les gammes des mesures respectives et leurs correspondances en N.²

Tableau 1. Correspondances en N des composés mesurés

Bandelette « ammonium »		Bandelette « nitrate-nitrite »			
Ammonium, en mg.L⁻¹		Nitrate, en mg.L⁻¹		Nitrite, en mg.L⁻¹	
NH₄⁺	NH₄⁺-N	NO₃⁻	NO₃⁻-N	NO₂⁻	NO₂⁻-N
	facteur de correction x0.778	facteur de correction x0.226		facteur de correction x0.304	
0	0	0	0	0	0
10	7.8	10	2.3	1	0.3
25	19.5	25	5.7	5	1.5
50	38.9	50	11.3	10	3
100	77.8	100	22.6	20	6.1
200	155.6	250	56.5	40	12.2
400	311.2	500	113	80	24.3

² Les échelles de lecture ne sont pas linéaires.

1.3 Application de la méthode

Les bandelettes testées sont commercialisées par MACHEREY-NAGEL. Une boîte permet la réalisation de 100 tests et le prix est de 20€ HT ou 30€ HT respectivement pour une boîte de bandelette «nitrate-nitrite» ou un kit pour la mesure d'ions ammonium. Il existe d'autres fabricants de bandelettes sur le marché, Merck notamment, mais tous utilisent les mêmes principes de réaction. L'étude ne concerne que les bandelettes Quantofix.

Les bandelettes «nitrate-nitrite» sont d'utilisation très simple. La bandelette est plongée brièvement dans l'échantillon en prenant soin que les zones indicatrices ne soient pas en contact avec les doigts. Après un laps de temps défini dans la notice (1 min), la couleur de la zone indicatrice est comparée avec l'échelle des teintes pour déterminer la concentration de l'ion mesuré en mg.L^{-1} .

Pour les bandelettes "ammonium", la manipulation nécessite l'ajout d'un réactif avant l'immersion de la bandelette. Pour cela, un volume d'échantillon de 5 ml doit être prélevé et placé dans un tube gradué fourni. Après l'ajout de 10 gouttes de réactif (solution de soude), la bandelette est immergée durant 5 secondes et la lecture de la concentration grâce à l'échelle colorimétrique est instantanée.

Une notice d'utilisation imagée pour chaque kit figure en Annexes 1 et 2.

La Figure 1 présente le kit pour la mesure d'ions ammonium et les bandelettes «nitrate-nitrite».



Figure 1. Composition du kit de bandelettes «ammonium» et tube de bandelettes «nitrate-nitrite»

L'interprétation par un opérateur inexpérimenté consiste à donner les valeurs hautes (H) et basses des concentrations (B) déterminées selon l'échelle colorimétrique. La concentration est affinée en fonction de l'intensité de la couleur de la zone indicatrice et de sa proximité marquée vers la valeur basse ou haute.

Comme l'illustrent la Figure 2 et le Tableau 2, si la couleur de la zone indicatrice reflète que la concentration en nitrates se situe entre 100 et 250 mg.L^{-1} mais plus proche de 250 mg.L^{-1} , alors la valeur est considérée supérieure à la moyenne de la fourchette ($(100+250)/2 = 175 \text{ mg.L}^{-1}$). La valeur retenue est donc de 212.5 mg.L^{-1} en nitrates, c'est à dire au centre de la fourchette 175-250. Il ne reste plus qu'à convertir cette concentration en N selon la méthode précédemment expliquée, le résultat devient 212×0.226 soit 48.0 mg N.L^{-1} .

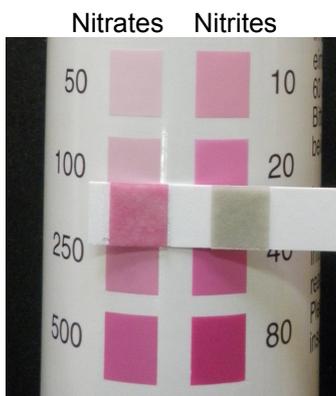


Figure 2. Zoom sur une boîte de bandelettes «nitrate-nitrite»

Tableau 2. Exemple de détermination de la concentration en nitrates à partir de l'échelle colorimétrique

Valeur Basse NO ₃ ⁻ [B] (mg.L ⁻¹)	Valeur Haute NO ₃ ⁻ [H] (mg.L ⁻¹)	Lecture	Nitrate, en mg.L ⁻¹	
			NO ₃ ⁻	NO ₃ ⁻ -N
100	250	proximité [B], entre [B] et [H], proximité [H]	137,5 175.0 212.5	31 40 48

Après report des fiches de terrain adaptées dans un tableau Excel (Tableau 2), il est possible de réaliser un test logique pour prendre en compte ou non, la proximité avec l'une ou l'autre des extrémités de la classe. On procède de la même manière pour les résultats des sels ammoniacaux. La liste des concentrations approchées grâce à ce mode de lecture figure en annexe 3.

1.4 Sites étudiés

Les sites étudiés ont été identifiés au préalable par le service du SATAA du Conseil Général du Rhône avec l'aide des SPANC du secteur. Les campagnes de mesure se sont réalisées chez trois particuliers volontaires possédant des systèmes d'ANC drainés, avec un rejet vers un exutoire accessible pour la réalisation de prélèvements. Les critères de sélection portaient à l'origine sur quatre filières de type CFSF, dimensionnées pour une famille de 4 habitants. Pour diverses raisons techniques et organisationnelles, seuls trois sites ont fait l'objet d'analyses. Les trois sites sont dénommés A, B et C tout au long de cette étude. Le Tableau 3 résume les principales caractéristiques et informations des sites étudiés.

Tableau 3. Récapitulatif des installations étudiées

	Capacité nominale (Habitants)	Prétraitement	Surface du filtre (m ²)
Site A	15 (3 habitations)	3x FTE de 30 m ³	45
Site B	5	FTE de 5 m ³	6
Site C	5	FTE de 5 m ³	7

Les méthodologies de prélèvements sont décrites en annexe 4.

2 Résultats

2.1 Validation des bandelettes en laboratoire

Les bandelettes sont testées sur des solutions synthétiques (dilution des sels dans de l'eau distillée) par deux opérateurs. La gamme d'étalonnage en ammonium comporte 17 concentrations en azote ammoniacal ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) allant de 0 à 311 mg.L^{-1} . La mesure des nitrates s'effectue à partir d'une gamme en azote nitrique ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) de 0 à 113 mg.L^{-1} avec 18 concentrations différentes. Les solutions ne sont pas analysées dans un ordre précis et les deux opérateurs n'ont pas connaissance des concentrations afin de ne pas influencer leurs interprétations. De plus, les solutions sont placées dans des tubes en polypropylène stériles à usage unique, afin d'éviter toute contamination. Les Figures 3 et 4 présentent les résultats obtenus.

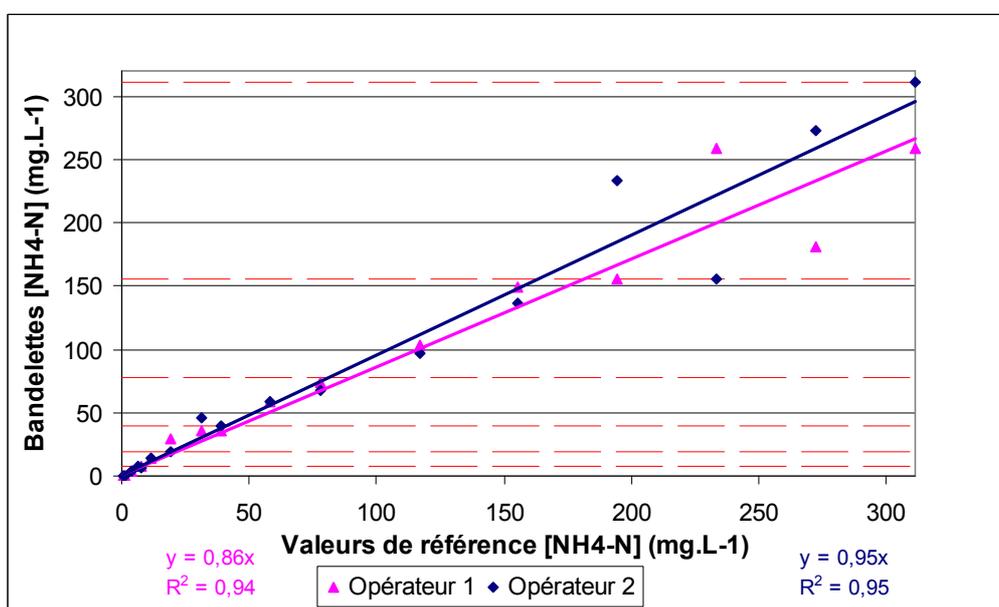


Figure 3. Droite d'étalonnage en azote ammoniacal

Les droites en pointillés rouge représentent les paliers de l'échelle colorimétrique des bandelettes (Tableau1). La Figure 3 met en évidence une bonne correspondance entre la réponse des bandelettes « ammonium » et les concentrations réelles des solutions synthétiques (valeurs de référence) car les coefficients de corrélation sont élevés pour les deux opérateurs ($R^2 \approx 0,95$). Toutefois, les bandelettes « ammonium » donnent des valeurs en deçà de la référence puisque les coefficients directeurs des droites de régression sont inférieurs à 1 ($a \approx 0,86$ ou $0,95$). De plus, ils sont assez différents entre les deux opérateurs ce qui illustre une différence d'interprétation entre les deux analystes.

Concernant la mesure des ions nitrate (Figure 4), les coefficients de régression sont moins bons ($R^2 \approx 0,88$ ou $0,94$) mais restent suffisamment élevés pour confirmer que les deux variables sont corrélées. Par ailleurs, les valeurs données par les bandelettes « nitrate » sont inférieures à la réalité (coefficients directeurs de $0,89$ ou $0,87$) et on observe une très légère différence de lecture entre les deux opérateurs.

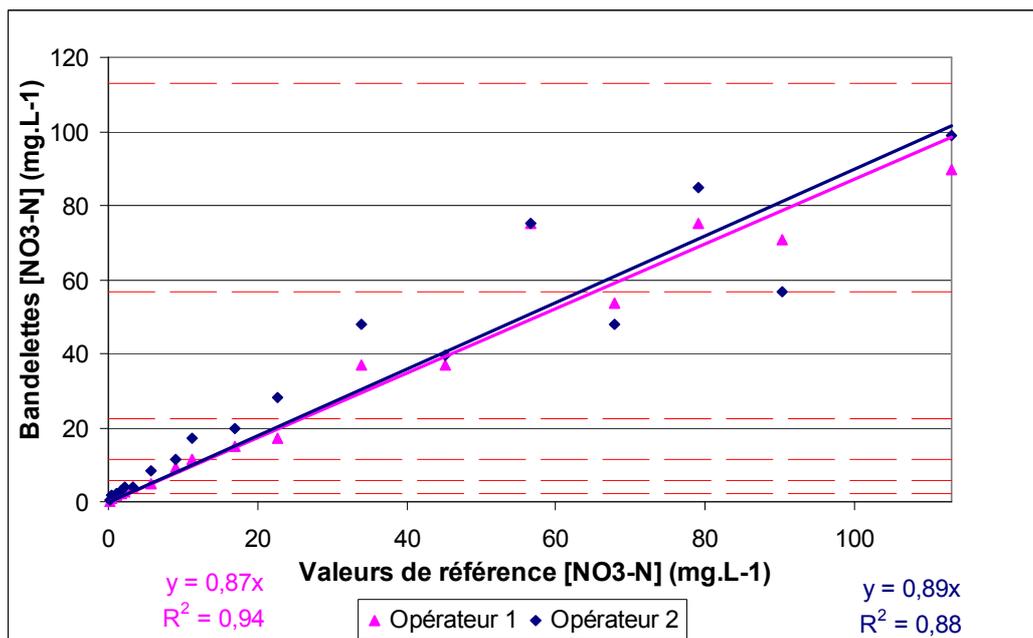


Figure 4. Droite d'étalonnage en azote nitrique

La linéarité de la réponse donnée par les bandelettes « ammonium » ou « nitrate » est, pour une méthode semi quantitative, considérée comme très bonne. Toutefois, une légère dispersion des valeurs est observée lorsque les concentrations en ions ammonium ou en nitrates dépassent respectivement 150 mg.L^{-1} ou 20 mg.L^{-1} . Sur le terrain ces écarts ne poseront pas de problèmes pour la mesure des ions ammonium car la concentration dépasse rarement 150 mg.L^{-1} dans le rejet d'un dispositif d'ANC³. En revanche, la précision des bandelettes semble moins bonne, là où les concentrations en nitrates sont élevées.

Pour s'assurer de la qualité des solutions synthétiques, trois fioles de chaque gamme ont été analysées a posteriori en suivant des protocoles de mesures normées (Normes AFNOR NF T90-015-1 et AFNOR NF EN ISO 10304-1) (Tableau 4). Les fioles choisies, sont celles pour lesquelles les valeurs données par les bandelettes étaient les plus éloignées des concentrations supposées.

Tableau 4. Vérification de quelques concentrations dans la gamme d'étalonnage nitrate et ammonium

	Concentrations supposées des fioles analysées (mg.L^{-1})	Concentrations mesurées a posteriori par méthodes chimiques normées (mg.L^{-1})
$\text{NH}_4^+ \text{-N}$	195	192
	233	220
	272	250
$\text{NO}_3^- \text{-N}$	57	56
	68	67
	90	89

Ces vérifications confirment la qualité de réalisation des solutions synthétiques et l'absence de contamination inter flacon. La dispersion des valeurs obtenues avec les bandelettes « nitrate » et « ammonium » provient sûrement de l'interprétation de l'opérateur et de sa sensibilité à des lectures colorimétriques. Il est logique que la dispersion des valeurs s'accroisse avec les concentrations car l'échelle de lecture n'est pas linéaire, avec des paliers croissants avec les concentrations.

³ Pour des dispositifs à cultures fixées sur supports fins.

2.2 Impact du mode de prélèvement

La détermination des ions ammonium et nitrate à l'aide des bandelettes s'effectue sur des prélèvements ponctuels, c'est à dire à un instant t dans la journée. Il faut évaluer en quoi ce prélèvement instantané est effectivement différent d'un fonctionnement quotidien. C'est pourquoi un comparatif est réalisé entre un prélèvement ponctuel et un « bilan moyen sur 24 h » asservi au temps. Un bilan moyen 24 h est obtenu grâce à un préleveur automatique réfrigéré prélevant selon un pas de temps fixe⁴. Les Figures 5 et 6 représentent les concentrations en azote ammoniacal et nitrique mesurées par des méthodes chimiques normées sur des prélèvements ponctuels ou des bilans 24 h pour deux sites dénommés A et B.

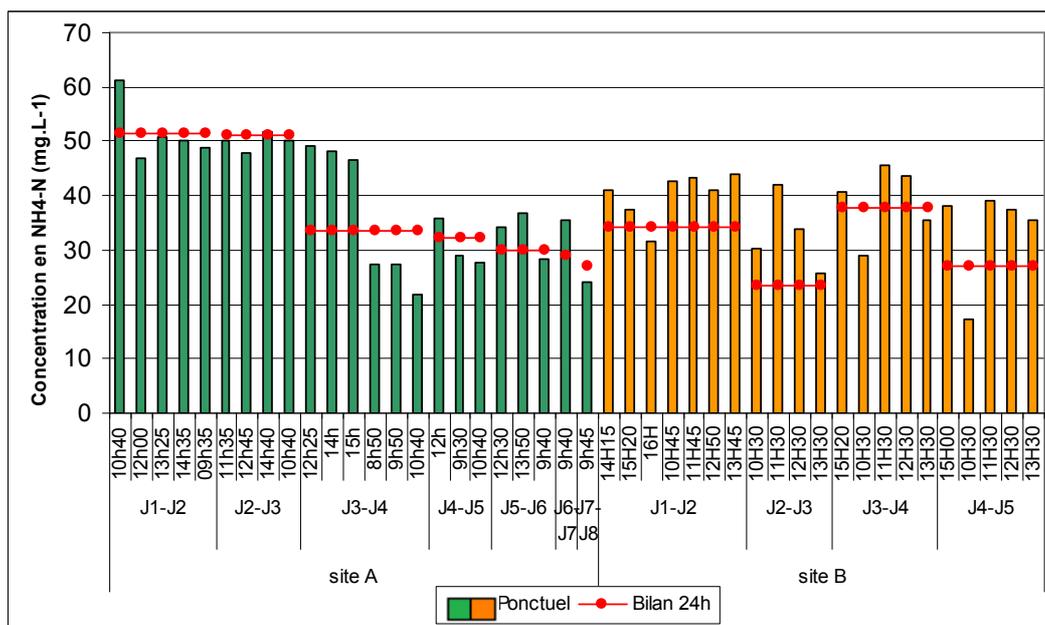


Figure 5. Comparaison du mode de prélèvement sur la concentration en azote ammoniacal sur les deux sites

Pour les sites A et B, les valeurs en ions ammonium obtenues, à partir d'un prélèvement ponctuel ou un bilan 24 h, sont considérés comme proches. Sur le site A, les analyses effectuées sur les prélèvements ponctuels entraînent le plus souvent, une sous estimation de la concentration réelle. L'inverse est observé pour le site B.

Concernant la mesure de l'azote nitrique, des fluctuations de concentrations sont observées au cours de la journée. La tendance reste la même pour les deux sites : l'analyse sur des prélèvements ponctuels sous estime la valeur réelle⁵.

⁴ En absence de mesures de débit, il n'a pas été possible de réaliser des prélèvements proportionnels aux débits.

⁵ Les concentrations faibles en nitrates obtenues en début de campagne sur le site A sont surprenantes et démontrent un dysfonctionnement. Effectivement ce site subissait un problème de répartition de l'effluent sur le filtre qui a pu être réparé rapidement, pendant les mesures.

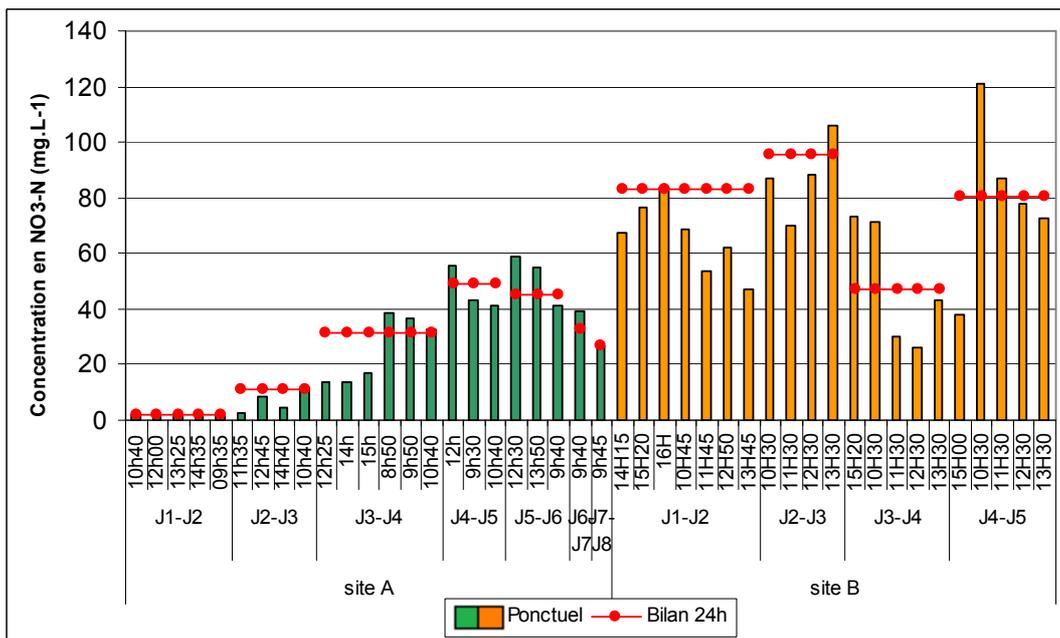


Figure 6. Comparaison du mode de prélèvement sur la concentration en azote nitrique sur les deux sites

Le pourcentage d'écart entre une concentration obtenue à partir d'un prélèvement ponctuel par rapport à un bilan sur 24h a été calculé pour 44 échantillons.

La moyenne des écarts s'élève à 26 % concernant les nitrates et 2 1% pour les ions ammonium (Annexe 5). Ces écarts sont non négligeables et engagent à une certaine précaution quant à l'interprétation des résultats analytiques. L'usage du prélèvement ponctuel reste pourtant un mode de prélèvement possible qui induit effectivement un biais dont il faut tenir compte.

2.3 Validation des bandelettes sur le terrain

Des campagnes de mesures sont réalisées sur trois sites d'ANC complétées par quelques mesures sur des Stations d'épuration (STEP) de petites collectivités de 500 EH environ⁶. Ces campagnes de mesures permettent de générer 81 valeurs pour l'opérateur 1 et 71 valeurs pour l'opérateur 2, absent lors de certains suivis. Chaque opérateur réalise trois mesures parallèles par échantillon et chaque point reprend la moyenne des trois valeurs obtenues. Les Figures 7 et 8 illustrent les relations obtenues avec les valeurs « bandelettes » et les valeurs mesurées selon des méthodes chimiques normées, appelées valeur de référence.

Les mesures avec les bandelettes « ammonium » sont réalisées sur une plage réduite de la bandelette puisque seulement les 20 % inférieurs de la plage de concentration de la méthode (0.54 à 61.1 mg.L⁻¹ en NH₄⁺-N) sont sollicités. Les mesures sur le terrain donnent des corrélations moins bonnes qu'en laboratoire, toutefois les coefficients de corrélation sont acceptables (R²= 0.45 ou 0.75). Des différences d'interprétation sont une nouvelle fois observées entre les opérateurs car les coefficients directeurs sont différents. Un opérateur sous-estime les valeurs alors que l'autre surestime les concentrations réelles.

⁶ Les traitements épuratoires des STEP étaient deux filtres plantés de roseaux et un filtre à sable, c'est à dire des filières de type CFSF de l'assainissement collectif.

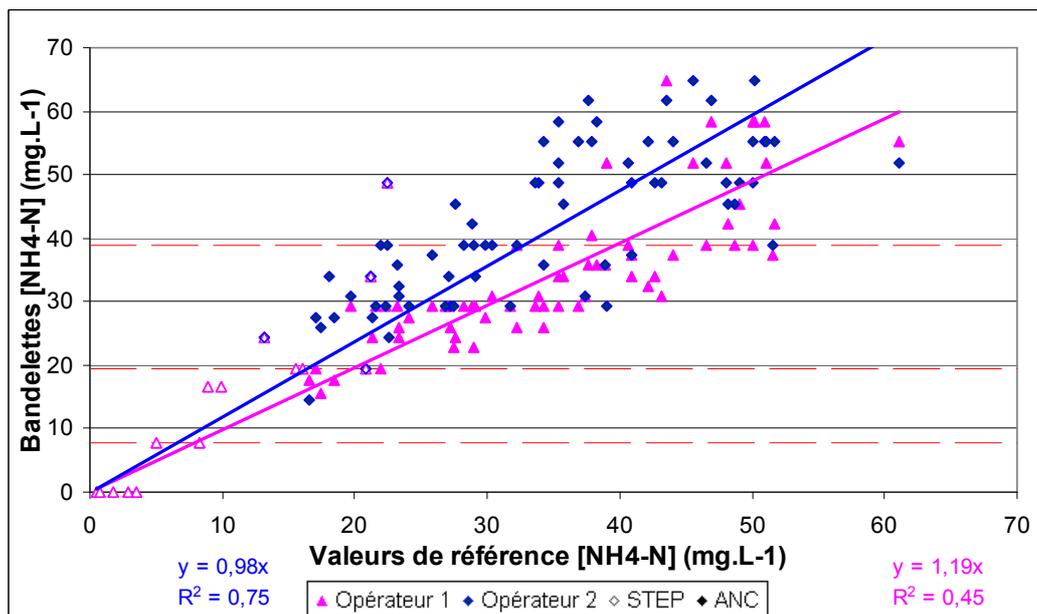


Figure 7. Régressions linéaires entre les valeurs de référence et les bandelettes pour la mesure de l'azote ammoniacal

Concernant la mesure des ions nitrate, les bandelettes ont été testées sur l'ensemble de leur domaine d'application, plus précisément de 1.35 à 136.2 mg.L⁻¹ en NO₃⁻-N. Les coefficients de corrélation d'une droite de régression non représentée sont bas ($R^2 \approx 0.17$ et 0.29) et soulignent une très forte dispersion des points.

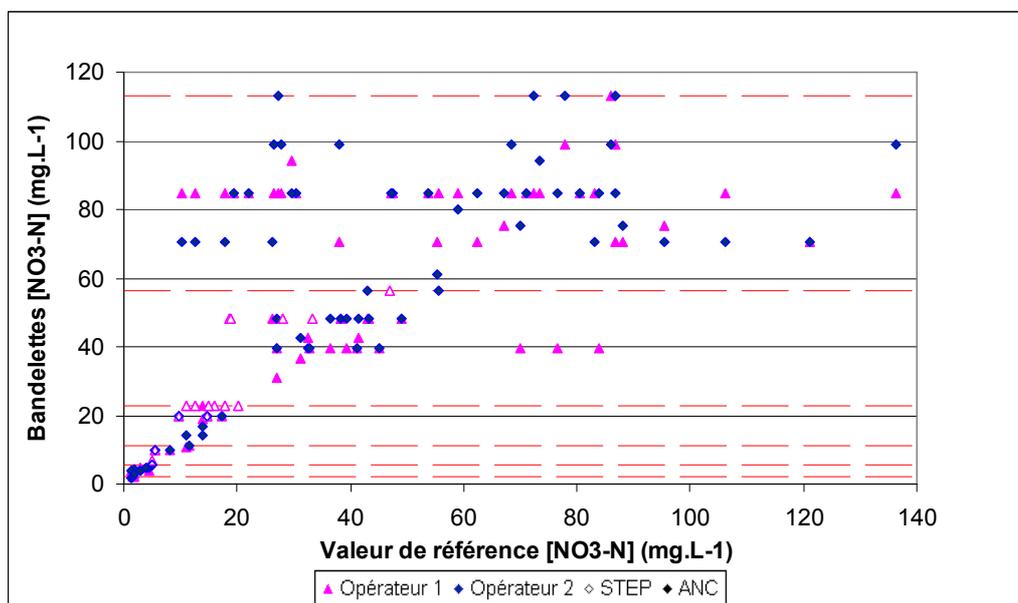


Figure 8. Régressions linéaires entre les valeurs de référence et les bandelettes pour la mesure de l'azote nitrique

Pour comprendre l'origine des biais observés, l'erreur entre la valeur donnée par les bandelettes et la valeur de référence est calculée pour chaque échantillon. Le calcul de l'erreur E est rappelé ci-dessous :

$$E = (X - Y) / X \text{ où } X \text{ est la valeur mesurée et } Y \text{ la valeur de référence (méthode chimique normée)}$$

Les pourcentages d'erreur sont ensuite mis en relation avec les concentrations en ammonium ou nitrates en vue d'identifier leur éventuel lien. Des graphes sont ainsi réalisés (Figures 9 et 10).

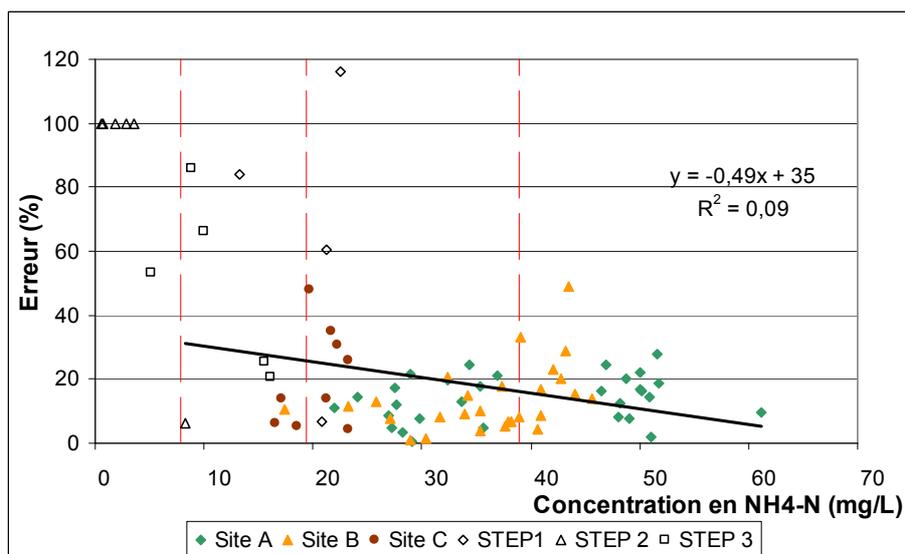


Figure 9. Représentation de l'erreur des bandelettes « ammonium » par rapport à la concentration en azote ammoniacal mesurée par l'opérateur 1

Les graphes suivants sont issus seulement de l'interprétation de l'opérateur 1 mais les mêmes tendances sont observées pour l'opérateur 2.

Concernant la mesure des ions ammonium, les erreurs à 100 % correspondent à des concentrations en azote ammoniacal inférieures à 7.78 mg.L⁻¹, valeur correspondant à la limite de quantification des bandelettes. Les erreurs les plus élevées sont rencontrées sur la STEP 1 dues probablement à l'inexpérience avec l'outil analytique. En revanche, ces valeurs ne dépassent pas 50 % sur les mesures effectuées sur les sites ANC. Elles sont comprises, en grande partie, entre 0 et 30 %.

Une droite de régression est recherchée, après avoir exclu les points hors des limites de quantification. Le coefficient directeur, négatif, souligne une tendance à une diminution de l'erreur pour des concentrations croissantes. Avec un coefficient de régression de 0,09, il n'est pas possible de valider ce lien.

Concernant la mesure des ions nitrate, les erreurs les plus importantes correspondent au site C et atteignent 700 %. Les valeurs correspondant à ce site sont surprenantes et sont dans un premier temps exclues de l'analyse. Une droite de régression est tracée avec cet effectif restreint. Le coefficient directeur, négatif, souligne une tendance à une diminution de l'erreur pour des concentrations croissantes. Ici encore, avec un coefficient de régression de 0,10, il n'est pas possible de valider ce lien.

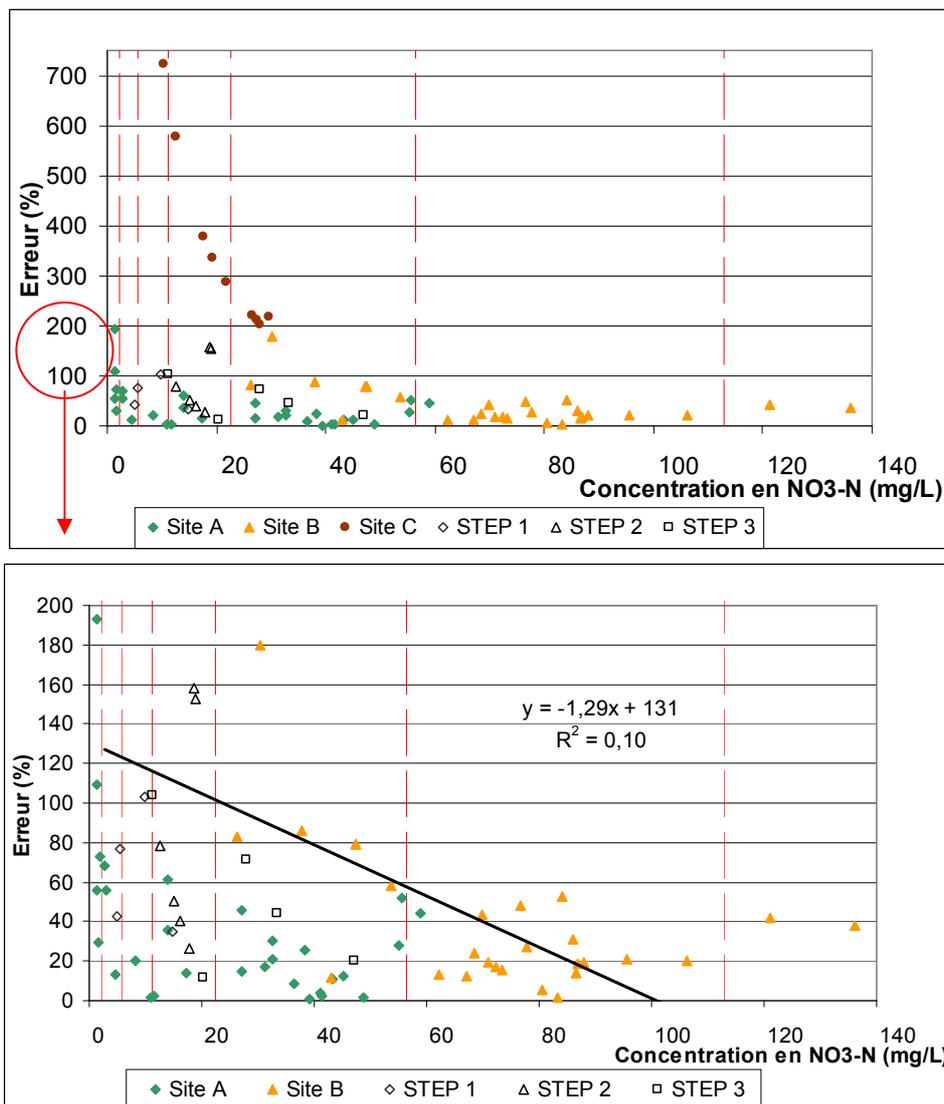


Figure 10. Représentations de l'erreur des bandelettes « nitrate » par rapport à la concentration en azote nitrique mesurée par l'opérateur 1 (2^{ème} figure : zoom de la 1^{ère} figure)

L'origine de ces biais n'est pas dépendante des concentrations, une analyse plus fine des ions nitrites est envisagée.

2.4 Amélioration de la méthode de mesure des nitrates

Suite à des études approfondies avec le laboratoire de chimie, la piste de la présence de nitrites est étudiée.

2.4.1 Interférences avec les nitrites sur la lecture des nitrates

Le principe de la détermination des nitrates consiste à réduire les nitrates en nitrites puis de faire réagir ces derniers avec une amine aromatique afin de former un colorant rouge après diazotation. Les nitrites peuvent donc être à l'origine d'une interaction sur la lecture des nitrates.

La Figure 11 représentant l'erreur entre les bandelettes « nitrate » et les valeurs de référence en fonction de la concentration en azote nitreux (NO_2^- -N) donnée par une méthode chimique normée atteste cette supposition.

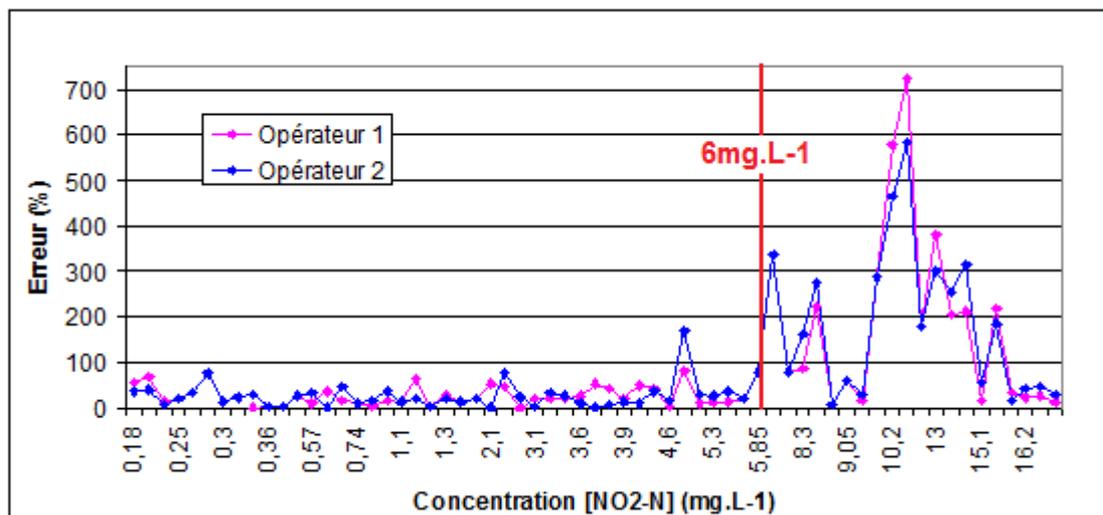


Figure 11. Représentation de l'erreur des bandelettes « nitrate » par rapport à la concentration en azote nitreux mesurée par une méthode chimique normée

Le pourcentage d'erreur augmente fortement dès que la concentration en azote nitreux dépasse 6 mg.L^{-1} . Toutefois certains points ne suivent pas cette tendance, c'est pourquoi la Figure 12 compare les pourcentages d'erreur en fonction de la présence relative des ions nitrites vis à vis des ions nitrates exprimés à l'aide du ratio $[\text{NO}_2^- \text{-N}] / [\text{NO}_3^- \text{-N}]$.

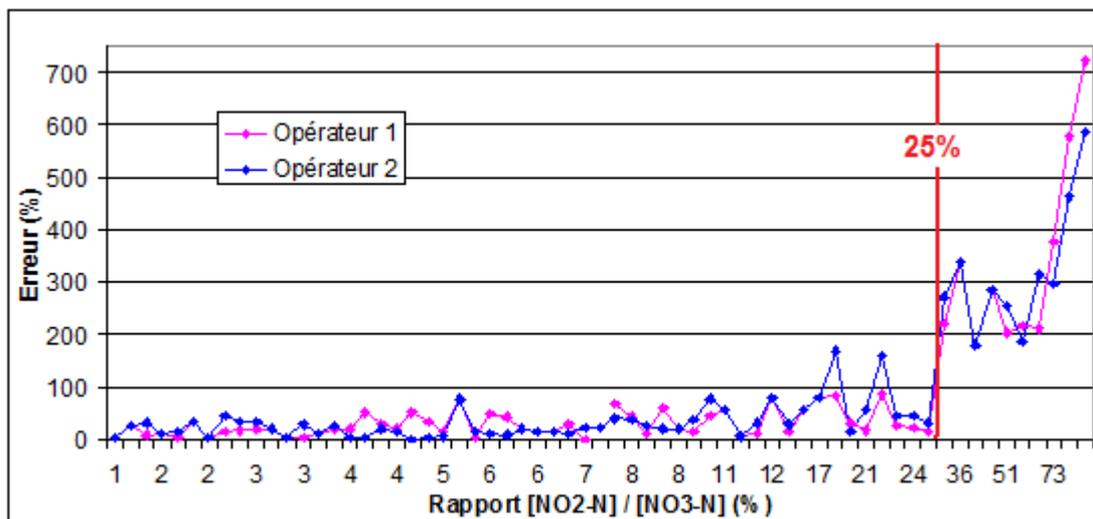


Figure 12. Représentation de l'erreur des bandelettes « nitrate » par rapport à la proportion d'azote nitreux par rapport à l'azote nitrique

Les pourcentages d'erreur dépassent 200 % dès que la proportion en nitrites est supérieure à 25 % (Figure 12). Les nitrites semblent donc avoir un effet néfaste sur la précision des bandelettes pour la lecture des nitrates.

Pour confirmer ces observations, un plan d'analyses est généré : des tests sont réalisés sur des solutions synthétiques et les réponses des nitrites et des nitrates sont observées.

Une gamme d'étalonnage en nitrite est réalisée afin de vérifier la fiabilité des bandelettes «nitrate-nitrite» pour la mesure des nitrites. Cette gamme s'étend de 0 à 24.32 mg.L^{-1} en azote nitreux avec 15 concentrations différentes, la méthodologie décrite au paragraphe 2.1 est reprise. La Figure 13 montre les résultats obtenus avec les bandelettes pour un seul opérateur.

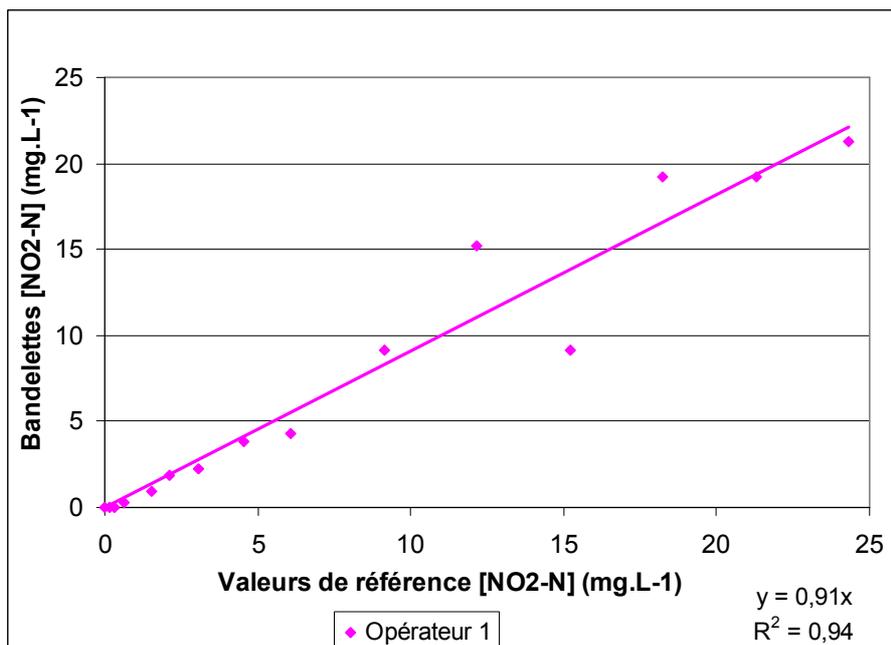


Figure 13. Régression linéaire en azote nitreux

La régression entre les bandelettes «nitrate-nitrite» et les valeurs de référence est excellente pour la mesure des nitrites ($R^2 = 0.94$, $a = 0.91$). Les bandelettes donnent des concentrations en nitrites fiables.

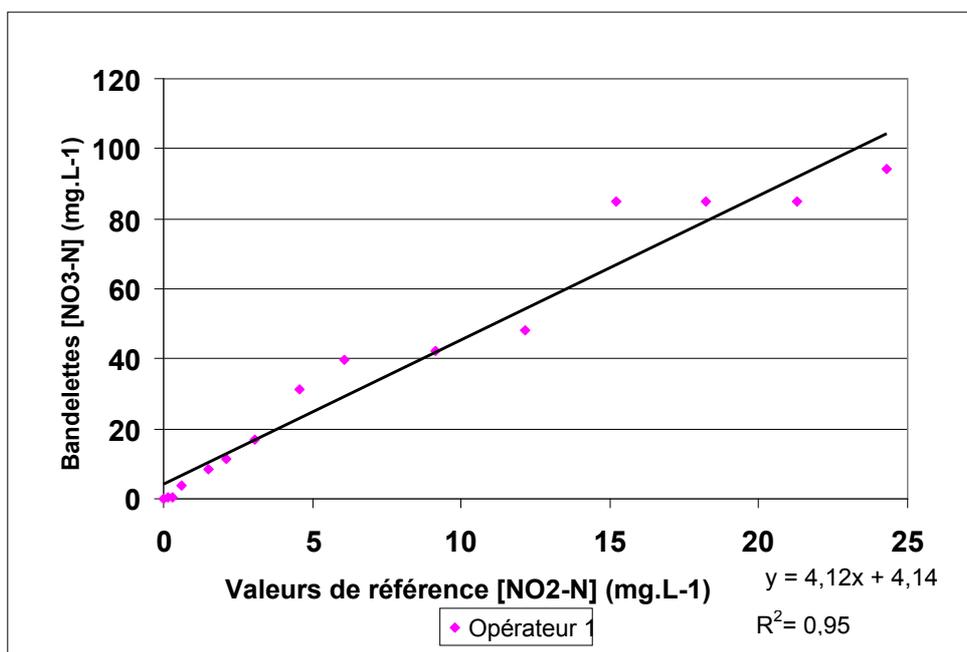


Figure 14. Interférences des nitrites sur la lecture des nitrates avec les bandelettes

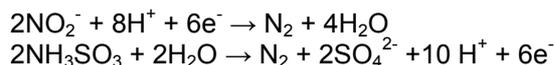
Les bandelettes «nitrate-nitrite» possède deux zones indicatrices, une pour la lecture des nitrates et l'autre pour la lecture des nitrites. Simultanément à la lecture des nitrites présentée ci-dessus, la concentration en nitrates a été lue sur la même bandelette (Figure 14). La couleur de la zone indicatrice des nitrates se colore alors que la concentration en nitrates est restée nulle : effectivement, les nitrites introduits dans la solution d'eau distillée ne peuvent se transformer en nitrates qu'en présence d'un oxydant puissant ou de biomasse. Ce sont donc bien les nitrites qui réagissent à la surface de la zone indicatrice et sont à l'origine de la coloration. Ce phénomène est surprenant : effectivement, la réaction à la surface de la zone indicatrice est une réduction des nitrates en nitrites, ces derniers formant un colorant azoïque rouge après diazotation et couplage avec une amine

aromatique. Ces résultats montrent que l'étape de réduction n'est pas une étape indispensable au développement de la coloration.

La concentration en nitrates lue par les bandelettes croit proportionnellement avec la concentration en nitrites ($R^2=0,95$). Les nitrites interfèrent donc positivement sur la lecture des nitrates.

2.4.2 Neutralisation des nitrites avec l'ajout d'acide amidosulfonique

D'après la notice des bandelettes, la méthode pour neutraliser les nitrites consiste en l'ajout de l'acide amidosulfonique. La réaction du processus de neutralisation est présentée ci dessous :



Afin de tester l'efficacité de l'acide amidosulfonique, des mesures sont réalisées avec ou sans ajout d'acide sur 39 échantillons d'une campagne de mesures. Les résultats sont repris dans la Figure 15.

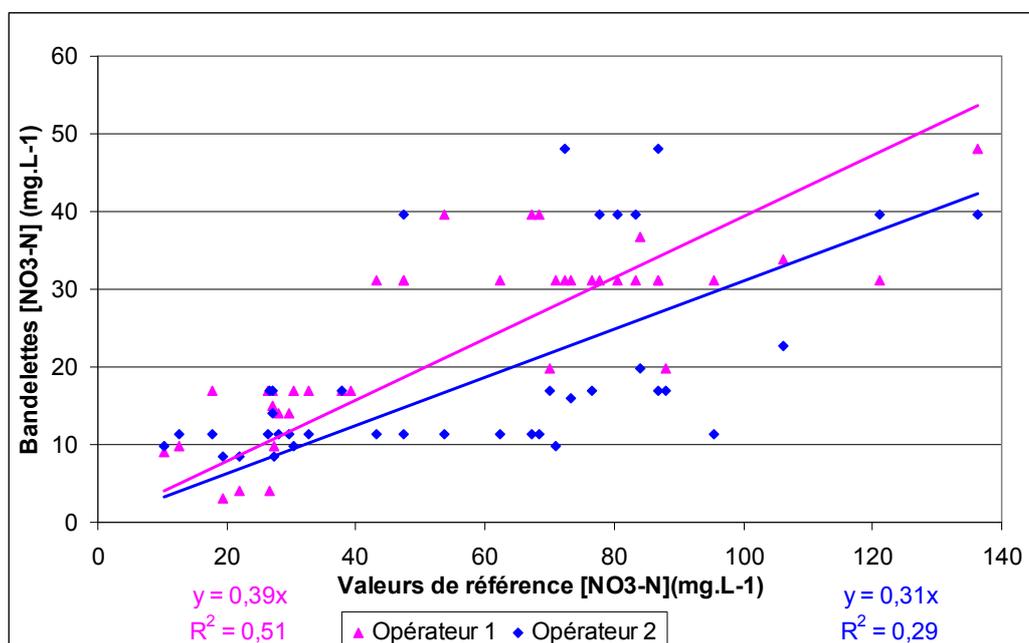


Figure 15. Régression linéaire entre les bandelettes « nitrate» avec l'ajout d'acide et les valeurs de référence

Comparé à la situation présentée en Figure 8, l'ajout d'acide amidosulfonique améliore les résultats donnés par les bandelettes car les coefficients de corrélation sont meilleurs ($R^2_{\text{opérateur 1}}=0,51$, $R^2_{\text{opérateur 2}}=0,29$). Toutefois, les pentes des droites sont faibles et similaires entre les deux opérateurs : les concentrations données par les bandelettes sont très inférieures à la référence. Ces mauvais résultats s'expliquent par un blocage du développement de la coloration dans un milieu trop acide ($\text{pH}<1$) suite à un excès d'apport d'acide par du matériel inadapté.

Cette erreur souligne la nécessité d'une méthodologie précise. Les essais ont repris en ce sens, la notice des bandelettes mentionnant que l'obtention d'un résultat fiable était conditionnée au pH de la solution compris entre 1 et 9.

L'apport d'acide afin de neutraliser les nitrites doit être fixe et indépendante de la concentration en nitrites ou nitrates. Pour cela, on utilise une micro-cuillère et on s'assure que le pH du milieu reste supérieur à 1. Des tests sont alors réalisés sur des solutions synthétiques de concentrations connus avec des proportions [nitrites]/ [nitrates] différentes. Les résultats obtenus sont mis en évidence dans les Figures 16 et 17.

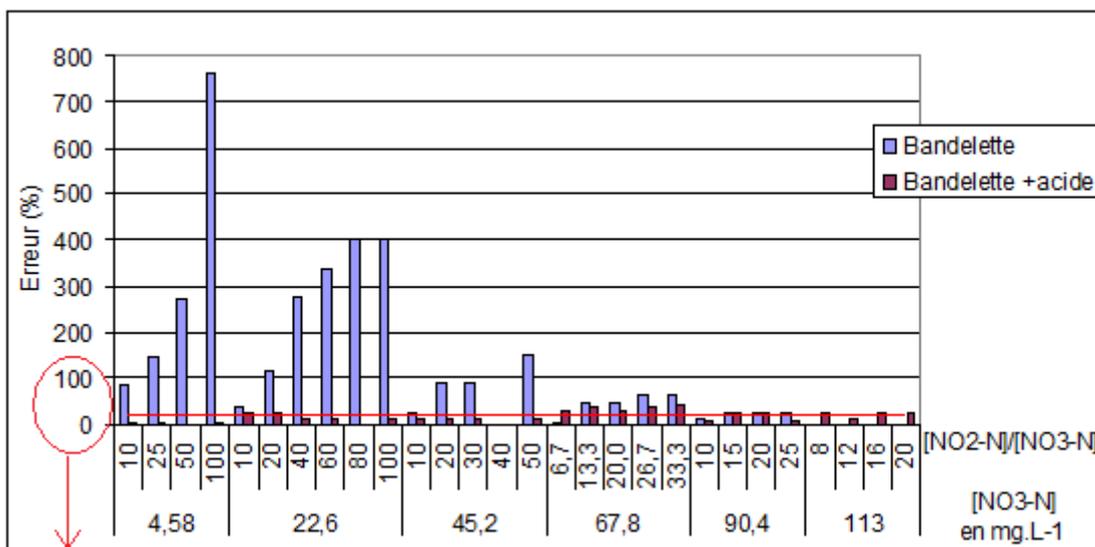


Figure 16. Erreur entre les bandelettes « nitrate » et la référence en fonction de la proportion de nitrites par rapport aux nitrates

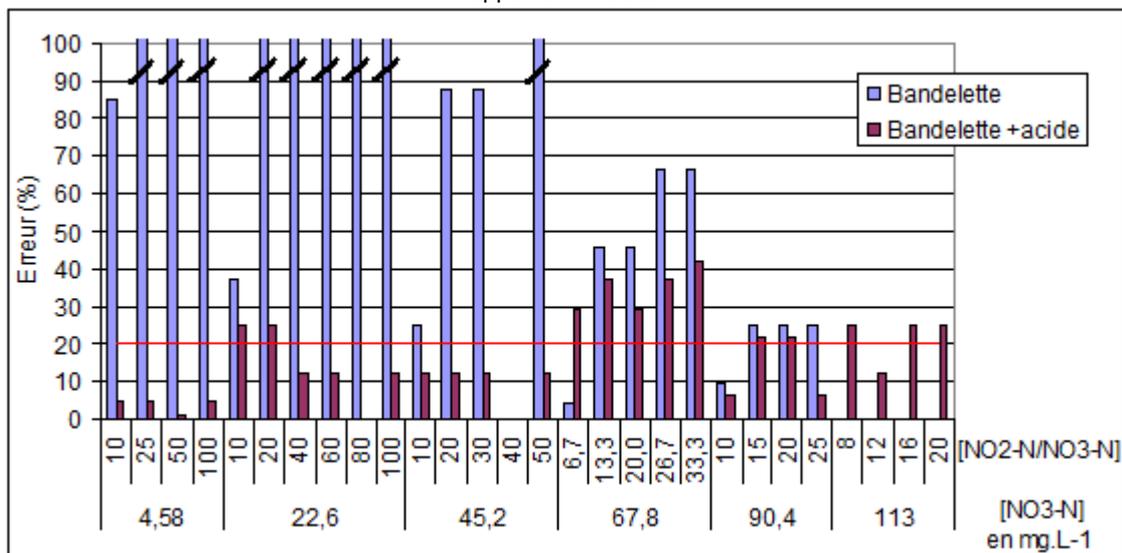


Figure 17. Zoom de la figure 16. erreur entre les bandelettes « nitrate » et la référence en fonction de la proportion de nitrites par rapport aux nitrates

Ces Figures 16 et 17 confirment que les nitrites interfèrent effectivement sur la lecture des nitrates. Ces erreurs dépassent très largement 100 % pour des concentrations en nitrates modérées ($\text{NO}_3^- \text{-N} \leq 22,6 \text{ mg.L}^{-1}$). En revanche pour de fortes concentrations ($\text{NO}_3^- \text{-N} \geq 90,4 \text{ mg.L}^{-1}$), les erreurs sont faibles voir nulles car le développement de la couleur est maximal. Les erreurs sur la lecture des nitrates croissent avec la proportion de nitrite dans la solution synthétique. Le seuil d'un ratio 25 % identifié en Figure 12 est confirmé sur ces solutions artificielles.

L'apport d'acide amidosulfonique réduit très sensiblement les erreurs, qui restent systématiquement inférieures à 50 %. Même si ce maximum reste important, rappelons que des erreurs de plus de 700 % étaient obtenues pour des concentrations faibles.

Une validation de ces résultats par des analyses sur des échantillons autres que synthétiques aurait été souhaitable. Faute de temps et d'échantillons disponibles, cette étape n'a pas été réalisée.

L'acide amidosulfonique doit donc impérativement être ajouté en présence de nitrites dans une quantité contrôlée en relation avec le volume d'échantillon à acidifier. La méthodologie ainsi complétée est décrite en annexe 6. Il est suggéré d'acquérir le complément méthodologique distribué par le même fabricant que les bandelettes utilisées dans cette étude.

2.5 Calcul des erreurs cumulées

Un préalable nécessaire à tout calcul d'erreur est de s'assurer de la répétabilité et la reproductibilité de la méthode dont on cherche à quantifier l'erreur. Le plan d'expérience ainsi que les résultats sont consignés en annexe 7. Ils permettent de conclure quant à la reproductibilité et à la répétabilité des méthodes bandelettes pour les formes azotées.

L'erreur maximale des bandelettes « ammonium » ou « nitrate » constitue un cumul des erreurs liées à la méthodologie. Il s'agit de :

- l'erreur entre une concentration obtenue à partir des bandelettes et la référence (Figures 9 et 10),
- l'écart lié au mode de prélèvement (cf. chapitre 2.2 Impact du mode de prélèvement),
- l'imprécision de la mesure dénommée « référence » par des méthodes chimiques normées, fixée à dire d'expert à 5 %.

Le Tableau 5 récapitule les erreurs calculées pour les bandelettes « ammonium », pour chaque opérateur et chaque site.

Tableau 5. Calculs d'erreurs concernant les bandelettes « ammonium » pour chaque site et chaque opérateur en %

		Site A		Site B		Site C		Intersites	
		<i>opérateur</i>							
erreur	prélèvement ponctuel	15.65		26.94		21.04 ⁷		21,04	
	bandelette « ammonium »	13.94	23.86	20.38	39.84	13.65	31.73	14.70	29.22
analyse normée	5		5		5		5		
Erreurs cumulées bandelette « ammonium »		34.59	44.51	43.59	63.67	46.42	65.88	40.74	65.88

Concernant les bandelettes « ammonium », l'erreur cumulée varie entre 34 et 66 % selon l'opérateur et les sites. Des différences sensibles entre les deux opérateurs apparaissent : la lecture colorimétrique est d'une interprétation dépendante de la sensibilité de chaque opérateur.

Les deux principales sources d'erreur : « mode de prélèvement » et « méthodologie bandelettes » sont de contribution équivalente dans l'imprécision de la méthodologie. L'erreur provenant des bandelettes s'explique par l'interprétation de l'opérateur mais également la lecture selon une gamme de valeurs (lecture semi-quantitative).

L'erreur cumulée, tout site confondu, estimée à partir de la moyenne entre les deux opérateurs sur un effectif total de 66 échantillons est calculée à 48%.

Les mêmes calculs sont réalisés pour la mesure des nitrates (Tableau 6) de toutes les données de concentration en azote nitrique dans le domaine d'application des bandelettes : 0 à 113 mg.L⁻¹ en NO₃⁻-N.

Tableau 6. Calculs d'erreurs concernant les bandelettes « nitrate » pour chaque site et chaque opérateur en %

		Site A		Site B		Site C		Intersites	
		<i>opérateur</i>							
erreur	prélèvement ponctuel	26.98		24,92		25,94		25,94	
	bandelette « nitrate »	23.65	21.67	39.25	46.93	350.62	333.47	80,14	79,94
analyse normée	5		5		5		5		
Erreurs cumulées bandelette « nitrate »		55.63	53.65	69.17	76.85	381.56	359.41	111,08	110,88

⁷ Il n'y a pas eu de comparatif entre des prélèvements ponctuels et des bilans sur 24h pour le site C. L'erreur liée au prélèvement est évaluée à la moyenne intersites.

Concernant les bandelettes « nitrates », l'erreur cumulée varie entre 54 et 382 % selon l'opérateur et les sites. L'erreur cumulée, tout site confondu, estimée à partir de la moyenne entre les deux opérateurs sur un effectif total de 59 échantillons est calculée à 111 %. Des différences entre les deux opérateurs sont faibles.

Par contre, les différences de mesures entre les sites sont étonnamment élevées ; les erreurs exceptionnelles (supérieures à 350 %). mesurées sur le site C s'expliquent par la présence de nitrites en quantité et proportions non négligeables.

La lecture des nitrates étant perturbée dès que la proportion de nitrites par rapport aux nitrates dépasse 25 %, le Tableau 7 mentionne les erreurs liées à la lecture des nitrates lorsque le ratio : $[\text{NO}_2^- - \text{N}] / [\text{NO}_3^- - \text{N}]$ reste inférieure à 25 %.

Tableau 7. Calculs d'erreurs, en %, concernant la mesure des nitrates lorsque $[\text{NO}_2^- - \text{N}] / [\text{NO}_3^- - \text{N}] < 25 \%$

		Site A		Site B		Intersites			
		opérateur		opérateur		opérateur			
erreur		1	2	1	2	1	2		
		prélèvement ponctuel		26.98		24,92		24.92	
		bandelette « nitrate »		23.65	21.67	33.40	41.39	28.43	31.33
		analyse normée		5		5		5	
Erreurs cumulées bandelette « nitrate »		55.63	53.65	62.32	71.31	59.37	62.27		

L'erreur cumulée, tout site confondu, estimée à partir de la moyenne entre les deux opérateurs sur un effectif total de 49 échantillons est calculée à 60 %, lorsque les échantillons contiennent des proportions $[\text{NO}_2^- - \text{N}] / [\text{NO}_3^- - \text{N}]$ inférieures à 25 %.

Les bandelettes « ammonium » sont plus fiables que les bandelettes « nitrate ». Les erreurs cumulées retenues sont

- de 48 % pour la mesure d'ions ammonium,
- et, de 60 % pour les ions nitrate lorsque la proportion de nitrite est faible.

3 Comment utiliser ces outils ?

3.1 Liens entre les rejets azotés et un paramètre caractérisant la qualité d'épuration

Pour les filières dont les processus de dégradation sont de type aérobie, il existe une relation entre la dégradation du carbone et la dégradation par oxydation des formes azotées (Duchène *et al*, 2002).

Les bandelettes donnant des informations sur les formes azotées contenues dans le rejet, permettraient elles de fournir une information chiffrée sur la dégradation du carbone caractérisée par le paramètre DBO_5 ?

Ce paramètre DBO_5 n'a pas été quantifié à chaque mesure ; c'est pourquoi l'analyse porte seulement sur les 12 points du site B. Les relations sont établies avec les données provenant de méthodes chimiques normées afin de travailler avec des valeurs fiables. Les régressions sont représentées par les Figures 18 et 19.

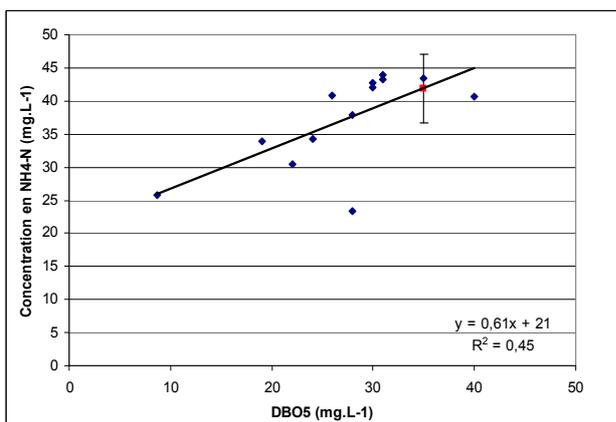


Figure 18. Régression entre la DBO₅ et les ions ammonium

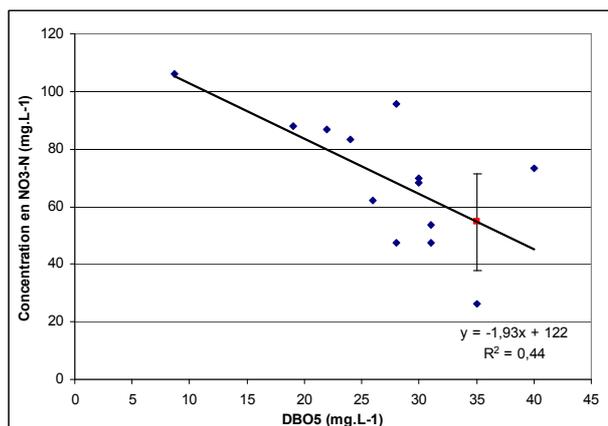


Figure 19. Régression entre la DBO₅ et les ions nitrate

Ces équations de régression permettent ainsi d'établir les intervalles de prédiction dans lesquels se situent respectivement les concentrations azotés en ammonium et nitrates pour une concentration en DBO₅ fixée à un seuil donné. L'exercice est conduit pour un seuil fixé 35 mg.L⁻¹ en DBO₅, seuil correspondant à une qualité de rejet aux exigences plutôt faibles, pour un milieu récepteur dont les exigences sont peu marquées.

Ces valeurs sont encadrées par une erreur de prédiction définie selon la formule suivante (Haccoun et al., 2007):

$$Ep = \frac{1}{n-1} \sqrt{\sum (y - yp)^2}$$

Où Ep : erreur prédiction

y : concentration en rejet azoté (mg.L⁻¹)

yp : concentration en rejet azoté prédit (mg.L⁻¹)

n : nombre d'essai

On obtient ainsi un intervalle [i₁; i₂] en appliquant la formule suivante :

$$i_1 = y - Ep$$

$$i_2 = y + Ep$$

Le Tableau 8 présente les valeurs de i₁ et i₂ calculées à partir de cette méthode pour x = 35 mg.L⁻¹ en DBO₅.

Tableau 8. Intervalles i₁ et i₂

	[NH ₄ ⁺ -N]=f(DBO ₅)	[NO ₃ ⁻ -N]=f(DBO ₅)
x (mg.L⁻¹)	35	
y (mg.L⁻¹)	41.91	54.69
Ep	5.20	16.69
[i₁ ; i₂]	[36.72 ; 47.11]	[38.00 ; 71.38]

L'erreur cumulée définie précédemment, liée à la méthodologie « bandelettes » est appliquée pour définir l'intervalle de correspondance de la lecture effectuée [i₁ ; i₂]. Les erreurs sont respectivement de 48 % pour la mesure des ions ammoniums et de 60 % pour les nitrates. La borne supérieure i₂ est définie en ajoutant l'erreur à la plus haute concentration définie i₂. La borne inférieure i₁ est définie en soustrayant l'erreur à la plus basse concentration définie i₁. Le Tableau 9 est construit ainsi.

Tableau 9. Intervalles I₁ et I₂

	[NH ₄ ⁺ -N]=f(DBO ₅)	[NO ₃ ⁻ -N]=f(DBO ₅)
Erreur cumulée(%)	48	60
[I₁ ; I₂]	[24.81 ; 90.60]	[23.75 ; 178.45]

L'installation fournit un rejet de qualité dont la DBO₅ est inférieure à 35 mg.L⁻¹ lorsque la concentration en azote ammoniacal est inférieure à 25 mg.L⁻¹ et lorsque la concentration en azote nitrique est supérieure à 178 mg.L⁻¹. A l'inverse, il y a un risque de dysfonctionnement lorsque la concentration en azote ammoniacal est supérieure à 91 mg.L⁻¹ et la concentration en azote nitrique est inférieure à 25 mg.L⁻¹. Les deux situations sont relatées dans la Figure 20.

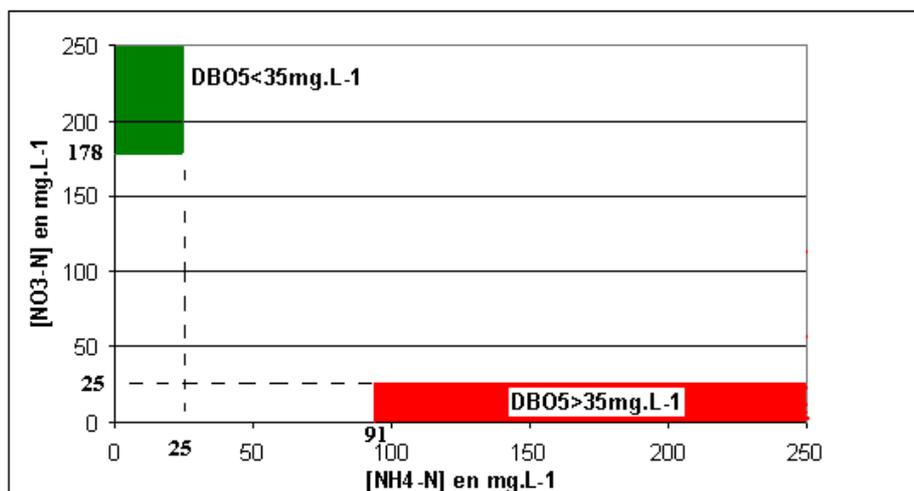


Figure 20. Représentation des zones de concentrations des formes azotées pour une concentration en DBO₅ donnée

Pour toutes les zones non colorées, l'étude ne permet pas de proposer un lien entre le résiduel en matières organiques et les teneurs azotées. De plus, les valeurs théoriques seuils ne sont pas représentatives de la qualité des rejets des stations. Rares sont les installations qui délivrent un rejet de plus de 90 mg.L⁻¹ d'ions ammonium, il est encore plus rare qu'elles délivrent un rejet de plus de 180 mg.L⁻¹ d'ions nitrates. Cette situation reste totalement théorique et n'est pas applicable.

Même si un lien existe avec la DBO₅ et les formes azotées, il n'est donc pas possible de définir la qualité d'un rejet vis à vis du paramètre DBO₅ en se basant sur les paramètres azotés, mesurés à l'aide de bandelettes. **Les bandelettes ne sont donc pas un indicateur de la qualité d'un rejet en sortie de dispositifs de type « cultures fixées sur support fin ».**

3.2 Indicateur de la santé des filtres

Une installation de type « Cultures Fixées sur Support Fin » est performante quand elle nitrifie, c'est à dire lorsque les bactéries oxydent les ions ammonium en nitrates⁸. Par conséquent, la concentration en nitrates dans les eaux usées traitées est supérieure à celle des ions ammonium. Dans le cas contraire, cela indique un manque d'oxygène, consécutif à une mauvaise circulation de l'air suite à une réduction de la porosité du média du fait d'un colmatage plus ou moins avancé. La mesure des ions azotés en sortie de traitement permettrait de déceler ce type de dysfonctionnement. L'abaque suivant (Figure 21) est construit uniquement sur cet équilibre auquel sont ajoutés les seuils d'erreurs (60 % pour N-NO₃⁻ et 48 % pour N-NH₄⁺) définis dans le cadre de cette étude.

On obtient ainsi les trois équations suivantes :

$$\begin{aligned}
 [\text{NO}_3^- \text{-N}] &= [\text{NH}_4^+ \text{-N}] & \text{soit } y &= x \\
 [\text{NO}_3^- \text{-N}]_{\text{mini}} &= [\text{NH}_4^+ \text{-N}]_{\text{max}} & y-0.60y &= x+0.48x & \text{soit } y &= 3.7x \\
 [\text{NH}_4^+ \text{-N}]_{\text{mini}} &= [\text{NO}_3^- \text{-N}]_{\text{max}} & x-0.48x &= y+0.60y & \text{soit } y &= 0.33x
 \end{aligned}$$

Les différentes droites définissent quatre secteurs caractérisant

- une zone de fonctionnement correct,
- une zone de dysfonctionnement,
- une zone de tendance au fonctionnement correct,
- ou, une zone de tendance au dysfonctionnement.

⁸ L'oxygène est indispensable à cette réaction et le raisonnement ne s'applique qu'aux filières fonctionnant en conditions aérobies.

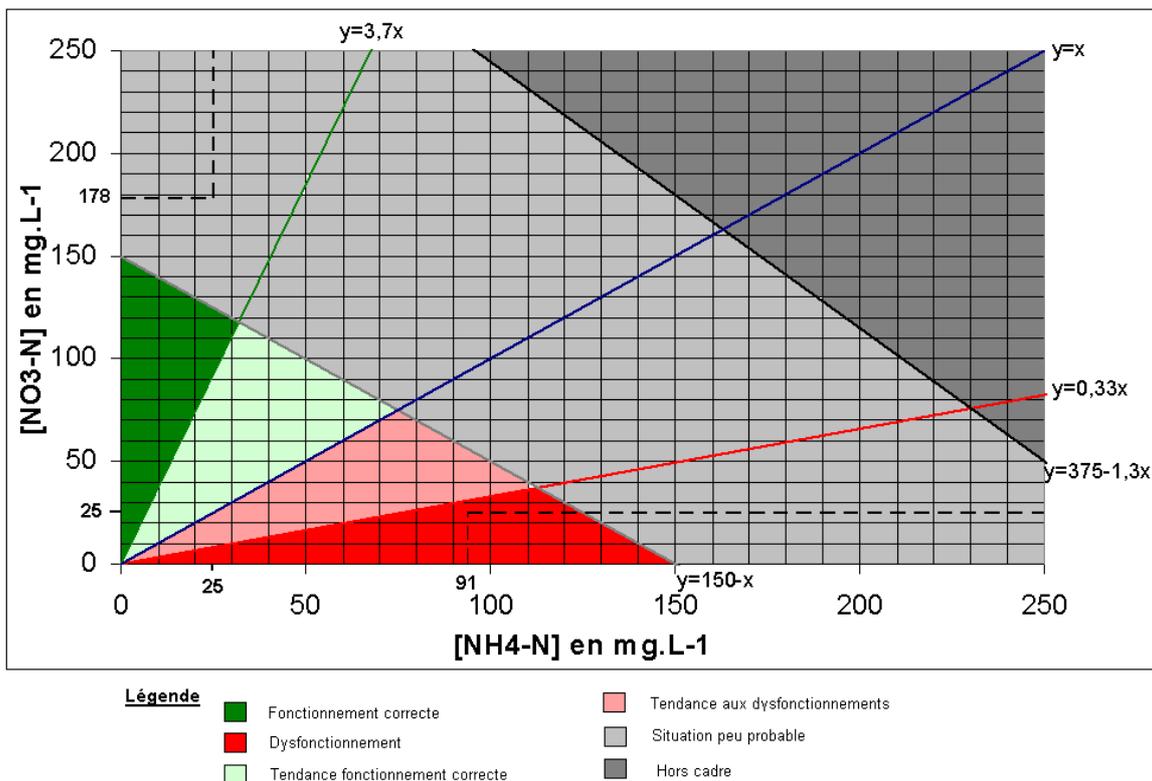
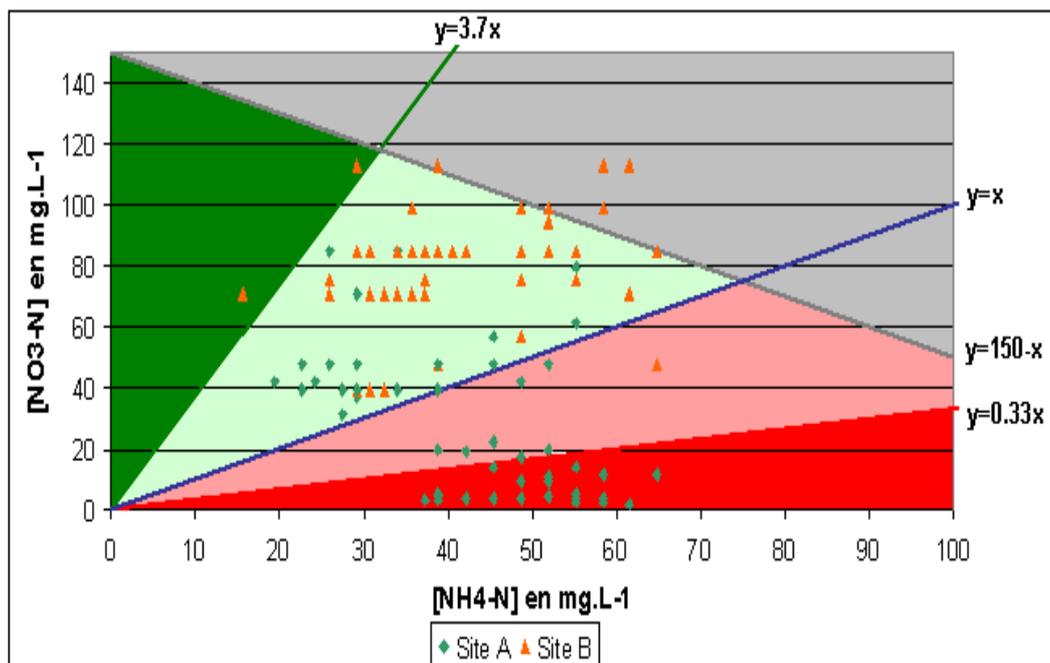


Figure 21. Graphe d'étalonnage permettant de juger de la qualité de fonctionnement d'une installation

A cela, est ajoutée une limite réaliste liant la somme des ions azotés sous la forme :
 $[NH_4^+-N] + [NO_3^--N] = 150 \text{ mg.L}^{-1}$.

Là encore, une limite extrême maximale est définie à partir du calcul d'erreur :
 $[NH_4^+-N]_{\text{mini}} + [NO_3^--N]_{\text{mini}} = 150 \text{ mg.L}^{-1}$ $x - 0.48x + y - 0.6y = 150 \text{ mg.L}^{-1}$ soit $y = 375 - 1.3x$

Afin de vérifier la pertinence de l'abaque proposé, les données obtenues avec les bandelettes par l'opérateur 1 sur les sites A et B sont positionnées sur la Figure 22. Les points du site C n'ont pas été positionnés car les concentrations en nitrates sont biaisées par des interférences avec des nitrites.



Légende

- | | |
|---|--|
| Fonctionnement correcte | Tendance aux dysfonctionnements |
| Dysfonctionnement | Situation peu probable |
| Tendance fonctionnement correcte | |

Figure 22. Concentrations en rejets azotés (en mg.L⁻¹ de N) quantifiées à l'aide des bandelettes par l'opérateur 1

Quelques points du site A se trouvent dans la zone rouge et reflètent un dysfonctionnement. Ces mesures rapides ont permis d'identifier ce dysfonctionnement. C'est ainsi qu'a été décelée une fuite dans le système de distribution induisant une répartition inégale. La réparation rapide conduit immédiatement à une évolution favorable des teneurs sur les 2 paramètres matérialisée sur l'abaque (Figure 22) par un passage du domaine rouge vers le domaine vert. Les lectures bandelettes ont permis de détecter rapidement ce dysfonctionnement, dont l'origine n'était pas facilement détectable visuellement.

Pour rendre cet abaque construit en N, directement utilisable avec les lectures bandelettes, les abscisses et ordonnées des échelles sont transformées en NH_4^+ et NO_3^- . Elle figure en annexe 8.

Conclusion

La validation des bandelettes pour la mesure des ions ammonium et nitrate a fait l'objet d'une étude en vue d'utiliser cet outil dans le suivi *in situ* d'installations d'ANC basées sur les processus de cultures fixées sur support fin. Les résultats sont les suivants.

Au niveau du prélèvement, l'écart moyen entre un prélèvement ponctuel et un bilan moyen sur 24 h asservi au temps s'élève à 21 % pour la mesure des ions ammonium et à 26 % pour les nitrates. Ces pourcentages d'écart sont non négligeables.

En laboratoire, les résultats obtenus sur des solutions synthétiques ont été concluants. Sur le terrain, les bandelettes « ammonium » ont donné des résultats satisfaisants. En revanche, les bandelettes « nitrate » n'ont pas toujours été fiables en raison d'interférences avec les ions nitrite. C'est pourquoi le protocole d'origine a fait l'objet d'adaptation. Il s'agit d'introduire de l'acide amidosulfonique dès que la zone indicatrice des nitrites se colore (lecture possible grâce aux bandelettes). La masse d'acide à ajouter doit suivre une méthodologie stricte, associée au volume d'échantillon à acidifier. Il faut donc privilégier l'achat d'un complément méthodologique référencé dans la notice des bandelettes « nitrate ». Le nouveau protocole, validé avec des solutions synthétiques, n'a pas fait l'objet de mesures spécifiques en conditions réelles.

Pour juger de la fiabilité de cette méthode semi-quantitative, des erreurs cumulées sont calculées. Elles prennent en compte les plusieurs sources d'erreur :

- méthode bandelettes,
- mode de prélèvement,
- analyse chimique normée.

Les erreurs cumulées rencontrées sont très élevées. Elles se situent, en moyenne, à 48 % pour les ions ammoniums et de 60 % pour la mesure des nitrates (quand la concentration en $[\text{NO}_2^-\text{N}]/[\text{NO}_3^-\text{N}] < 25\%$). En l'absence de validation sur solutions réelles du nouveau protocole supprimant l'interférence des ions nitrites, l'erreur cumulée retenue est celle évaluée précédemment, elle est de 48 % pour les ions ammonium et 60 % pour les nitrates. Malgré ces erreurs importantes, la suite de l'étude propose un cadre d'utilisation de ces bandelettes pour les filières à cultures fixées sur supports fins.

Afin d'estimer la qualité des rejets en sortie d'installations d'ANC grâce à la quantification des rejets azotés, des liens entre les ions ammonium et nitrate et la DBO_5 ont été établis. Ces relations ont été réalisées uniquement sur un site où le nombre de données en DBO_5 était suffisant pour interpréter une droite de régression. Il existe une relation entre les ions azotés et la matière organique biodégradable. Sans surprise, les concentrations en $\text{NH}_4^+\text{-N}$ et en $\text{NO}_3^-\text{-N}$ sont respectivement des fonctions croissante et décroissante de la matière organique biodégradable. Pourtant, du fait des grandes incertitudes de la méthodologie bandelette, les domaines correspondants avec certitude

- i- à une qualité de rejet inférieure à une concentration en DBO_5 égale à 35 mg.L^{-1} ,
- ii- à une qualité de rejet supérieure à une concentration en DBO_5 égale à 35 mg.L^{-1}

ne définissent pas des situations réalistes dans le domaine de l'épuration. C'est pourquoi les bandelettes ne peuvent caractériser la qualité d'un rejet vis à vis du paramètre DBO_5 .

En revanche cet outil analytique peut caractériser la santé d'un filtre. Effectivement, les dispositifs de types "cultures fixées sur supports fins" exigent la présence d'oxygène dans les interstices du média. Grâce à cet oxygène, les ions ammonium sont réduits en nitrates. Ces dispositifs produisent donc des nitrates en quantité abondante. Si la concentration en nitrates est inférieure à celle des ions ammonium dans les eaux usées traitées alors il y a un risque de colmatage. En tenant compte de l'imprécision des bandelettes, un abaque a été réalisé et permet à un opérateur de juger de la santé du dispositif en analysant les ions azotés avec les bandelettes. Cet abaque ne s'applique qu'aux filières répondant aux processus des cultures fixées sur supports fins.

L'outil « bandelettes » constitue donc un moyen d'investigation intéressant de certaines filières de traitement des eaux usées utilisées en ANC et permet d'évaluer rapidement leur mode de fonctionnement. C'est donc un moyen économique pour les Spancs de diagnostic plus poussé lors de leur visite chez les particuliers ou dans le cadre d'un suivi *in situ* allégé.

Il faut également rappeler que l'adaptation au contexte de l'assainissement collectif pourrait s'envisager car de nombreuses collectivités utilisent les procédés d'épuration par cultures fixées sur supports fins. Pour cela, il conviendrait d'évaluer l'ampleur de l'écart supplémentaire entre des prélèvements sur une durée de 24 h proportionnels au temps et des prélèvements sur une durée de 24 h asservis aux débits.

Références

Arrêté du 7 septembre 2009 fixant *les prescriptions techniques applicables aux installations d'assainissement non collectif recevant une charge brute de pollution organique inférieure ou égale à 1,2 kg/j de DBO₅*. Paru au journal Officiel du 9 Octobre 2009

Norme NF T90-015-1 : Dosage de l'ammonium, Méthode par titrimétrie après entraînement à la vapeur, 20-01-2000

Norme NF EN ISO 10304-1 : Dosage des anions dissous par chromatographie des ions en phase liquide, 10-07-2009

Norme ISO 5725-2 : Exactitude (justesse et fidélité) des résultats et méthodes de mesure

Norme NF ENV 13005 : Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure, août 1999

Boutin C., 2011. Les Microstations en Assainissement Non Collectif, Etat des lieux en Rhône-Alpes, ONEMA, rapport d'étape,

Duchène P., Vanier C. 2002. Réflexion sur les paramètres de qualité exigés pour les rejets de stations d'épuration, *Ingénieries EAT*, n°29. P.59-67

Haccoun R.R, Cousineau D. 2007. Statistiques : concepts et applications, PU Montréal, ISBN: 978-2-7606-2014-8

Mode opératoire des bandelettes Quantofix , Macherey-Nagel

Liste des annexes

Annexe 1 : Notice d'utilisation des bandelettes «nitrate-nitrite»

Annexe 2 : Notice d'utilisation des bandelettes « ammonium »

Annexe 3 : Gamme de concentration des bandelettes «nitrate-nitrite» et « ammonium »

Annexe 4 : Méthodologie de prélèvements

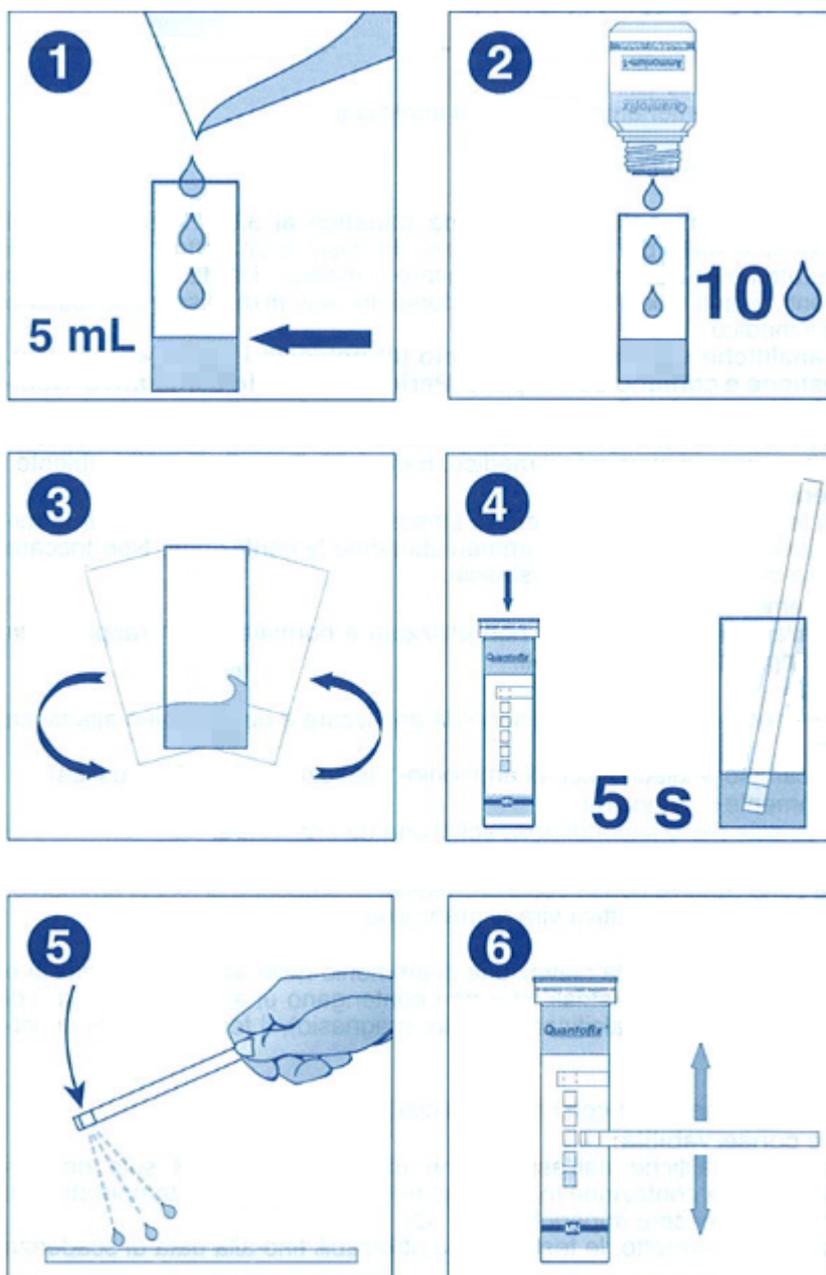
Annexe 5 : Impact du mode de prélèvement

Annexe 6 : Méthodologie des bandelettes pour la mesure des ions ammonium et nitrate

Annexe 7 : Répétabilité et reproductibilité

Annexe 8 : Abaque de détermination de la santé d'une filière par Cultures Fixées sur Support Fin

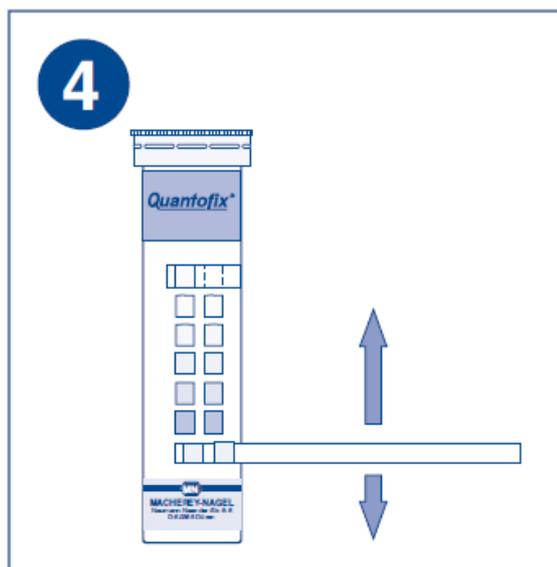
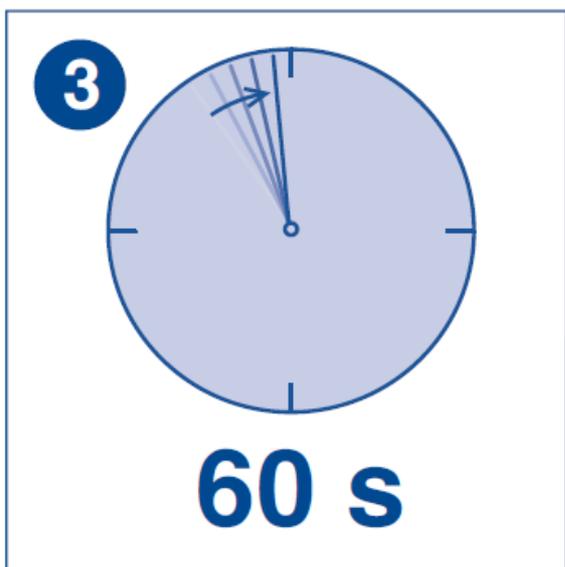
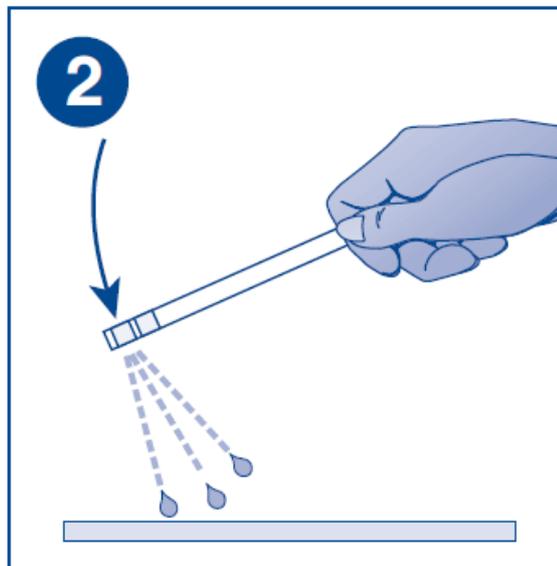
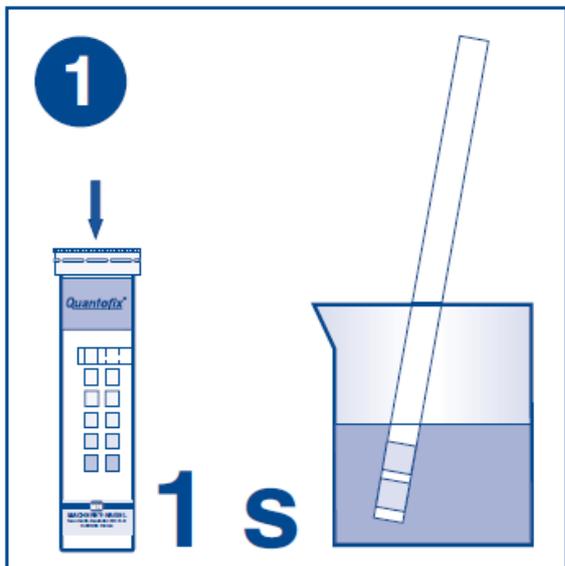
Annexe 1 : Notice d'utilisation des bandelettes « ammonium »



Mode d'emploi :

1. Rincer le récipient gradué avec la solution d'essai et le remplir jusqu'à la marque de graduation à 5 mL.
2. Ajouter 10 gouttes d'ammonium-1 (lessive de soude) à l'échantillon.
3. Agiter l'échantillon avec précaution.
4. Immerger la languette test dans l'échantillon pendant 5 secondes.
5. Éliminer l'excédent de liquide en secouant la languette.
6. Comparer la couleur de la zone test avec l'échelle colorimétrique. En présence d'ions ammonium, le papier test prend une teinte orange.

Annexe 2 : Notice d'utilisation des bandelettes «nitrate-nitrite»



Mode d'emploi :

1. Immerger la languette avec ses deux zones de test pendant 1 s dans l'échantillon (pH 1 à 9).
2. Éliminer l'excédent de liquide en secouant.
3. Attendre 60 s.
4. Comparer avec l'échelle colorimétrique. En présence d'ions de nitrate, la zone de test au bout de la languette vire au rouge-violet. La zone de test juste au-dessus indique la concentration de nitrite.

Annexe 3 : Gamme de concentration des bandelettes « ammonium » et « nitrate-nitrite »

Gamme de concentration des bandelettes « ammonium »

Concentration en ammonium/ azote ammoniacal (mg.L ⁻¹)				
Paliers de concentration	NH ₄ ⁺		NH ₄ ⁺ -N X 0,778	
	Moyenne	Moyenne intermédiaire		
0			0	
	5	2,5	1,9	
		7,5	3,9	5,8
10			7,8	
	17,5	13,8	10,7	
		21,3	13,6	16,5
25			19,5	
	37,5	31,3	24,3	
		43,8	29,2	34,0
50			38,9	
	75	62,5	48,6	
		87,5	58,4	68,1
100			77,8	
	150	125	97,3	
		175	116,7	136,2
200			155,6	
	300	250	194,5	
		350	233,4	272,3
400			311,2	

Interprétation

L'interprétation incombe à chaque utilisateur. Cette interprétation, semi quantitative, consiste à donner deux valeurs de concentration haute et basse en comparant la zone indicatrice de mesure et l'échelle colorimétrique. Ces valeurs peuvent, toutefois, être affinées. En effet, si l'intensité de la couleur se rapproche plus de la fourchette basse ou de la fourchette haute, on va réévaluer la concentration en la diminuant ou l'augmentant vis à vis de la moyenne.

Par exemple, si la couleur de la zone indicatrice reflète que la concentration en ammonium se situe entre 10 et 25 mg.L⁻¹ en NH₄⁺ et si elle est plus proche de 10 mg.L⁻¹ alors la valeur retenue est inférieure à la moyenne de la fourchette ((10+25)/2 = 17,5 mg.L⁻¹). La concentration en nitrate est donc estimée à 13,8 mg.L⁻¹ ((10+17,5)/2=13,8 mg.L⁻¹) soit 10,7 mg.L⁻¹ en NH₄⁺-N.

Gamme de concentration des bandelettes « nitrate-nitrite »

Concentration en nitrate/azote nitrique (mg.L ⁻¹)			Concentration en nitrite/azote nitreux (mg.L ⁻¹)			
NO ₃ ⁻		NO ₃ ⁻ -N X 0.226	NO ₂ ⁻		NO ₂ ⁻ -N X 0.304	
Paliers de concentration	Moyenne		Moyenne intermédiaire	Paliers de concentration		Moyenne
0		0	0		0	
	5	2,5	0,6		0,1	
		7,5	1,1	0,5	0,2	
			1,7		0,2	
10		13,8	2,3	1	0,30	
	17,5	21,3	3,1		0,6	
			4,0	3	0,9	
			4,8		1,2	
25		31,3	5,7	5	1,52	
	37,5	43,8	7,1		1,9	
			8,5	7,5	2,3	
			9,9		2,7	
50		62,5	11,3	10	3,04	
	75	87,5	14,1		3,8	
			17	15	4,6	
			19,8		5,3	
100		137,5	22,6	20	6,08	
	175	212,5	31,1		7,6	
			39,6	30	9,1	
			48		10,6	
250		312,5	56,5	40	12,2	
	375	437,5	70,6		15,2	
			84,8	60	18,2	
			98,9		21,3	
500			113	80	24,3	

Interprétation

L'interprétation incombe à chaque utilisateur. Cette interprétation, semi quantitative, consiste à donner deux valeurs de concentration haute et basse en comparant la zone indicatrice de mesure et l'échelle colorimétrique. Ces valeurs peuvent, toutefois, être affinées. En effet, si l'intensité de la couleur se rapproche plus de la fourchette basse ou de la fourchette haute, on va réévaluer la concentration en la diminuant ou l'augmentant vis à vis de la moyenne.

Par exemple, si la couleur de la zone indicatrice reflète que la concentration en nitrate se situe entre 100 et 250 mg.L⁻¹ en NO₃⁻ et si elle est plus proche de 250 mg.L⁻¹ alors la valeur retenue est supérieure à la moyenne de la fourchette ((100+250)/2 = 175 mg.L⁻¹). La concentration en nitrate est donc estimée à 212,5 mg.L⁻¹ ((175+250)/2=212 mg.L⁻¹) soit 48 mg.L⁻¹ en NO₃⁻-N.

Annexe 4 : Méthodologie de prélèvements

Sur les installations A et B, des prélèvements ponctuels ont été réalisés après avoir relevé les eaux à l'aide d'une pompe péristaltique et des bilans moyens sur 24 h à l'aide d'un préleveur réfrigéré (Tableau a). Ce dernier était réglé pour prélever un échantillon de 100 ml toutes les 6 minutes durant 24 h. Les eaux usées traitées collectées sur une journée étaient réparties dans 24 flacons représentant les tranches horaires. L'échantillon moyen a été reconstitué à partir d'un volume de 250 ml prélevé de chaque flacon horaire préalablement homogénéisé.

La réalisation de bilan sur 24 h n'a pas été possible sur le site C en raison de la configuration de l'installation. L'alternative était de mettre en charge le dispositif sur plusieurs jours. La canalisation de sortie a été bouchée grâce à un obturateur durant 4 jours. La durée de mise en charge a été réfléchi afin d'obtenir suffisamment d'eau pour effectuer des prélèvements tout en évitant de noyer le filtre, ce qui aurait grandement modifié ses conditions de fonctionnement.

Tableau a. Lieux de prélèvement des sites A, B et C

	Prélèvement ponctuel	Bilan 24h	Photos
Site A	Pompe péristaltique	Préleveur réfrigéré	
Site B			
Site C	Pompe		

Le volume d'échantillon variait de 1 L à 2 L en fonction des analyses demandées. Les concentrations en nitrates et ammonium étaient directement déterminées à l'aide de la lecture des bandelettes. Ensuite l'échantillon était envoyé au laboratoire de Irstea où les paramètres azotés étaient déterminés selon des méthodes chimiques normées.

Analyses en laboratoire

Le dosage de l'azote ammoniacal s'effectue par acidimétrie, après distillation pour des teneurs supérieures à 10mg.L⁻¹, selon la norme NF T90-015-1. L'analyse consiste à un entraînement à la vapeur suivi d'un titrage du condensat par de l'acide chlorhydrique.

Le dosage de l'azote nitrique s'effectue par chromatographie ionique selon la norme NF EN ISO 10304-1. Après avoir été débarrassé de substances solides, d'ions sulfites et métalliques, l'échantillon passe dans une colonne chromatographique où les anions sont séparés puis détectés en sortie. Cette colonne comprend une résine échangeuse d'ions comme phase stationnaire et des sels d'acide monobasique et dibasique comme éluant. Enfin, la détection s'effectue au moyen d'un détecteur UV.

Les valeurs du laboratoire de chimie sont exprimées en mg.L⁻¹ en azote nitrique et en azote ammoniacal.

Annexe 5 : Impact du mode de prélèvement

	ions ammonium en mg.L ⁻¹ de NH ₄ -N			nitrates en mg.L ⁻¹ de NO ₃ -N		
	prélèvement ponctuel	bilan 24h	% écart ponctuel/bilan	prélèvement ponctuel	bilan 24h	% écart ponctuel/bilan
site A	61,1		18,4	1,75		2,8
	46,9		9,1	1,35		25,0
	50,9	51,6	1,4	1,35	1,8	25,0
	50		3,1	1,45		19,4
	48,7		5,6	2,9		61,1
	50		2,0	2,85		74,1
	48	51	5,9	8,25	11	25,0
	51,7		1,4	4,55		58,6
	50,2		1,6	11,6		5,5
	49,1		46,1	14		55,3
	48,2		43,5	13,9		55,6
	46,5	33,6	38,4	17,3	31,3	44,7
	27,2		19,0	38,3		22,4
	27,5		18,2	36,5		16,6
	21,9		34,8	32,6		4,2
	35,7		10,5	55,7		13,9
	29	32,3	10,2	43,3	48,9	11,5
	27,6		14,6	41,5		15,1
	34,3		15,1	58,9		30,6
	36,9	29,8	23,8	55,2	45,1	22,4
28,2		5,4	41,1		8,9	
35,4	29,1	21,6	39,3	32,7	20,2	
24,1	26,9	10,4	27	27,1	0,4	
	moyenne	15,7	moyenne	26,9		
	médiane	10,5	médiane	22,4		
	max	46,1	max	74,1		
	min	1,4	min	0,4		
site B	40,9		19,6	67,2		19,2
	37,4		9,4	76,6		7,9
	31,7		7,3	84		1,0
	42,7	34,2	24,9	68,4	83,2	17,8
	43,2		26,3	53,7		35,5
	40,9		19,6	62,3		25,1
	44		28,7	47,4		43,0
	30,4		30,5	86,9		9,0
	42,1	23,3	80,7	69,9	95,5	26,8
	33,9		45,5	88		7,9
	25,8		10,7	106,2		11,2
	40,6		7,1	73,3		55,0
	28,9		23,7	71		50,1
	45,6	37,9	20,3	30,3	47,3	35,9
	43,5		14,8	26,3		44,4
	35,4		6,6	43,1		8,9
	38,2		41,0	37,9		53,0
	17,4		35,8	121,2		50,4
	39	27,1	43,9	86,7	80,6	7,6
	37,6		38,7	77,8		3,5
35,4		30,6	72,4		10,2	
	moyenne	26,9	moyenne	24,9		
	médiane	24,9	médiane	19,2		
	max	80,7	max	55,0		
	min	6,6	min	1,0		
Site A + B	moyenne	21,04	moyenne	25,94		
	médiane	18,73	médiane	21,27		
	max	80,69	max	74,09		
	min	1,4	min	0,4		

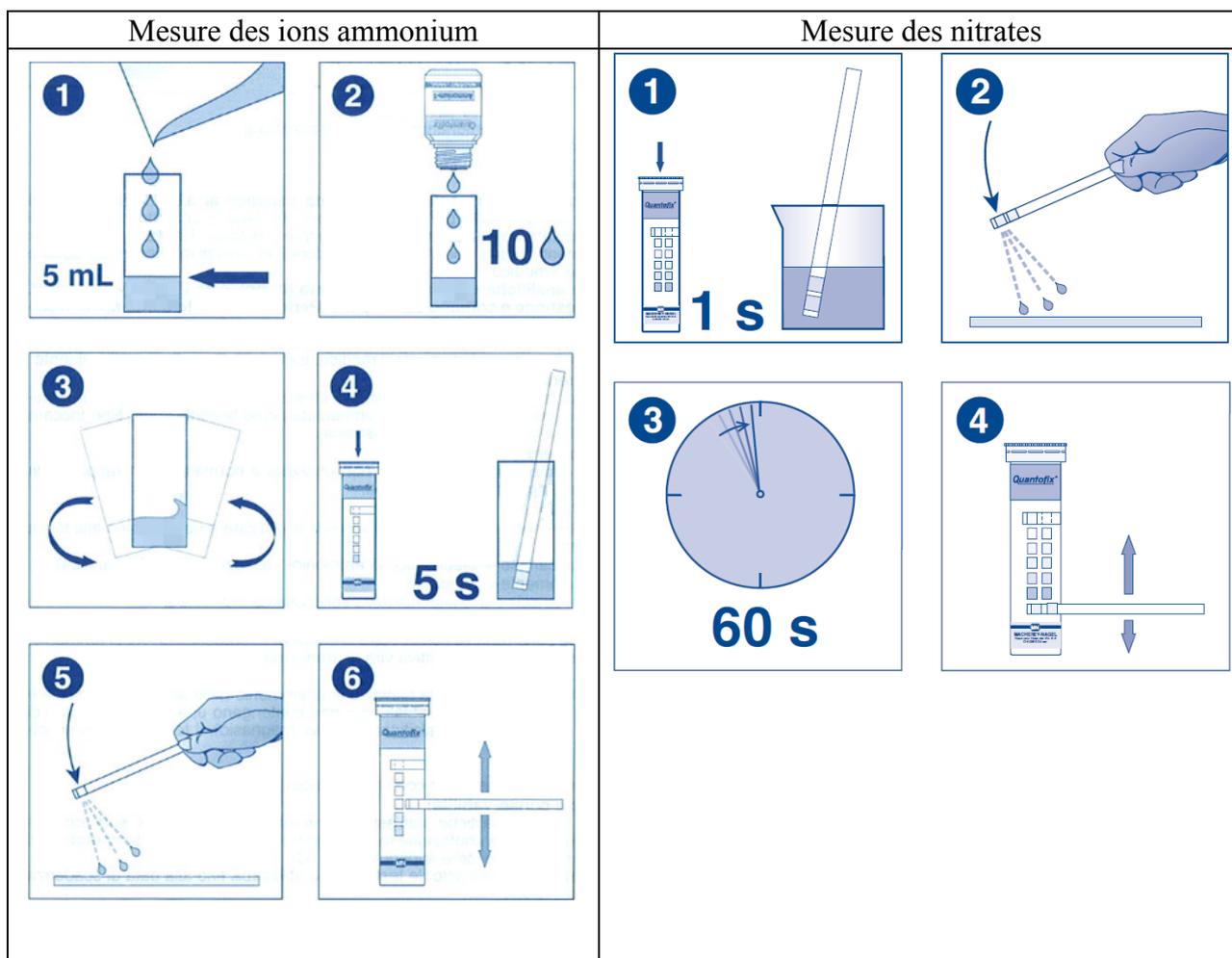
Annexe 6 : Méthodologie des bandelettes pour la mesure des ions ammonium et nitrate

Prélèvement

Une quantité d'eaux usées traitées inférieure à 100 ml est suffisante pour réaliser cette analyse.

Analyse

Les manipulations sont explicitées respectivement dans les annexes 1 et 2 par le descriptif des notices d'emploi.



Précautions supplémentaires concernant la lecture des nitrates :

Il est préférable d'utiliser un bécher et de réaliser l'analyse dans celui-ci afin de ne pas souiller l'échantillon. Les bandelettes « nitrate » permettent également de mesurer la concentration en nitrites. Dans le cas où la zone indicatrice des nitrites se colore (rose à violet), il faut recommencer la lecture des nitrates ; la présence de nitrites biaise la mesure des nitrates. Pour cela, renouveler le volume d'échantillon et ajouter une micro-cuillère d'acide amidosulfonique avant d'immerger la bandelette. Les instructions (volume d'échantillon de 10 ml, dissolution de l'acide, réaction de 5 minutes, avant lecture) figurent dans la notice du complément méthodologique.

Lecture

La couleur de la zone indicatrice est comparée à l'échelle colorimétrique et permet d'avoir une concentration en mg.L^{-1} d'ammonium ou nitrates selon les grilles de lecture mentionnées en annexe 3.

Interprétation

L'opérateur positionne le couple de points obtenus sur l'abaque de l'annexe 8. Il peut ainsi opérer à un premier jugement sur la santé du filtre.

Annexe 7 : Répétabilité et reproductibilité

Une série de dix essais sur un même échantillon et dans les mêmes conditions est menée pour les deux types de bandelettes et par les deux opérateurs. Les variances de répétabilité et de reproductibilité ainsi que les coefficients de variation sont ainsi calculés.

La variance de répétabilité S_r^2 s'obtient par la moyenne des variances des k séries d'essais. Elle ne prend pas en compte la variation des valeurs moyennes.

$$S_r^2 = \frac{1}{n-1} \sqrt{\sum (x_i - \bar{x}_i)^2}$$

Avec n : nombre d'essai

x_i : valeur de la série de mesure

\bar{x}_i : moyenne de la série de mesure

La reproductibilité S_r^2 prend en compte les variations dans les groupes et entre les groupes. La variance de reproductibilité s'obtient par la somme de la variance de répétabilité et des moyennes (variance « inter-opérateurs ») S_r^2 (Haccoun *et al.*, 2007)

$$S_R^2 = S_r^2 + S_g^2$$

Le coefficient de variation s'obtient en divisant l'écart type par la moyenne.

Le Tableau a résume les résultats obtenus grâce à la série de dix mesures sur un même échantillon.

Tableau a. Série de dix mesures sur un même échantillon par deux opérateurs

	essai	azote ammoniacal		azote nitrique	
		Opérateur		Opérateur	
		1	2	1	2
Concentration (mg.L⁻¹)	1	38,90	48,63	4,80	3,96
	2	38,90	38,90	4,80	3,96
	3	38,90	48,63	3,96	3,96
	4	48,63	38,90	4,80	3,96
	5	38,90	48,63	4,80	3,96
	6	38,90	48,63	4,80	3,96
	7	48,63	38,90	4,80	3,11
	8	48,63	38,90	4,80	3,96
	9	38,90	38,90	4,80	3,96
	10	48,63	38,90	4,80	3,96
Moyenne (mg.L⁻¹)		42,79	42,79	4,72	3,87
Coefficient de variation		0.117	0.117	0.057	0.069
Ecart type de répétabilité (mg.L⁻¹)		5,02		0,268	
Ecart type de reproductibilité (mg.L⁻¹)		0,0000		0,599	

Les écarts type de répétabilité sont identiques pour les deux opérateurs et très faibles ce qui signifie que les bandelettes « ammonium » et « nitrate » sont répétables. Les variations sont plus élevées pour les mesures qui se situent dans une gamme de concentration élevée, là où la méthode est moins précise.

En ce qui concerne la reproductibilité, les écarts types sont faibles, voir nuls, donc la méthode est reproductible que ce soit pour la mesure des ions ammonium ou celle des ions nitrate. L'écart type de reproductibilité est égal à zéro pour les bandelettes « ammonium » car les moyennes des deux séries de mesures sont égales.

Afin de s'assurer de la bonne répétabilité et reproductibilité de la méthode, les mêmes calculs ont été réalisés sur un effectif de 77 échantillons, provenant des sites A, B et C. Ici la répétabilité est évaluée sur les trois lectures unitaires effectuées sur chaque prélèvement. Les Tableaux b et c récapitulent les paramètres calculés en précisant le minimum et maximum ainsi que la médiane et la moyenne.

Tableau b. Récapitulatif des écarts type de répétabilité et de reproductibilité pour les bandelettes « ammonium »

Bandelette « ammonium »				
	Concentrations (mg.L⁻¹)	Ecart type de répétabilité	Ecart type de reproductibilité	coefficient de variation (%)
Moyenne	45,14	3,57	8,88	0,063
Médiane	40,53	2,81	6,88	0,054
Max	92,39	16,37	36,67	0,189
Min	16,05	0,00	0,00	0,000
Nombre d'échantillons	77			

Tableau c. Récapitulatif des écarts type de répétabilité et de reproductibilité pour les bandelettes « nitrate »

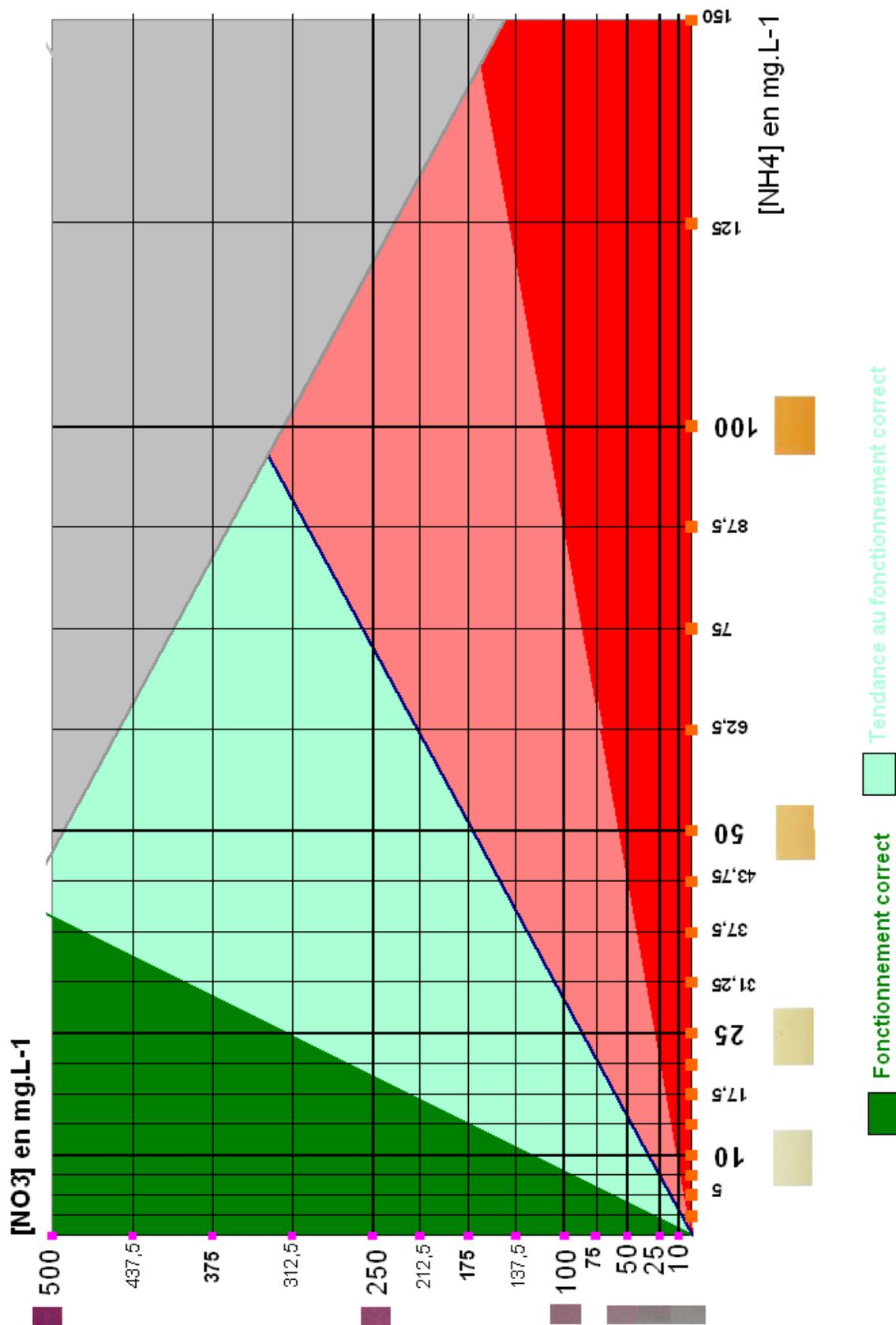
Bandelette « nitrate »				
	Concentrations (mg.L⁻¹)	Ecart type de répétabilité	Ecart type de reproductibilité	coefficient de variation (%)
Moyenne	48,66	0,79	5,27	0,018
Médiane	48,03	0,00	1,99	0,000
Max	105,9	5,76	31,96	0,173
Min	0,00	0,00	0,00	0,000
Nombre d'échantillons	77			

Les coefficients de variation des moyennes obtenus pour les deux types de bandelettes sont moins élevés que ceux de la série de dix essais, ce qui laisse penser que la mesure est fiable. Ce résultat est à relativiser puisque cette répétabilité n'a été évaluée que sur un échantillon restreint de trois mesures parallèles (au lieu de dix en laboratoire).

Les écarts type de reproductibilité semblent être plus élevés que ceux évalués sur la série de 10 essais ; ils confirment la différence d'interprétation entre les deux opérateurs déjà mentionnée.

Annexe 8 : Abaque de détermination de la santé d'une filière par CFSF

Indication de santé des massifs filtrants
Cultures Fixées aérobies sur Support Fin



Onema
Hall C – Le Nadar
5 square Félix Nadar
94300 Vincennes
01 45 14 36 00
www.onema.fr

irstea
1, rue Pierre-Gilles de Gennes
CS 10030
92761 Antony Cedex
01 40 96 61 21
www.irstea.fr