

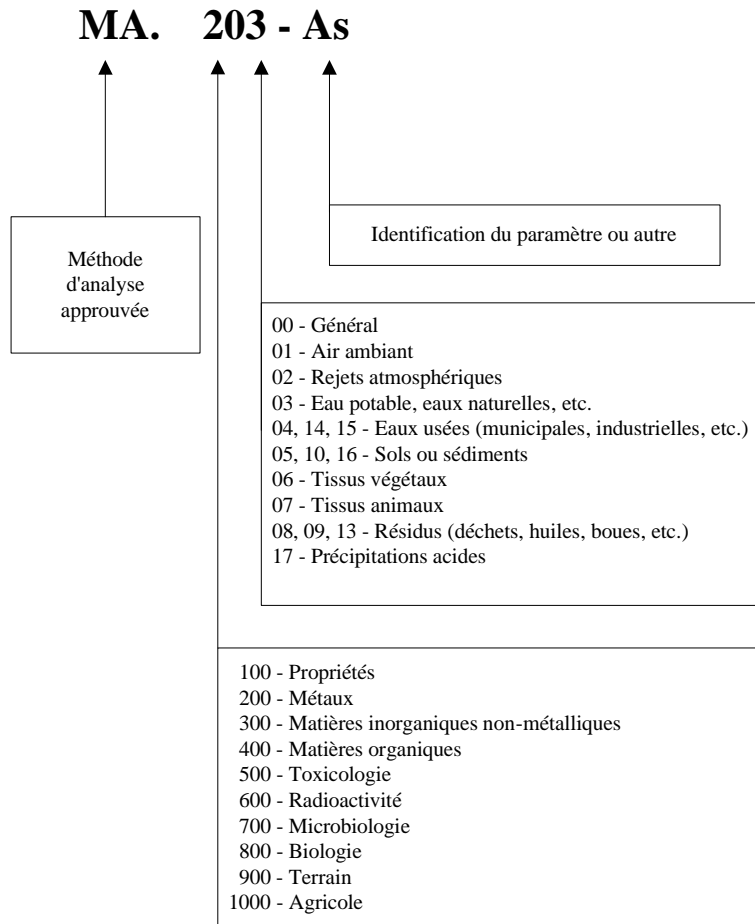
Méthode d'analyse



MA. 315 – DBO 1.1

Détermination de la demande biochimique
en oxygène : méthode électrométrique

Comment fonctionne la codification?



Note – Les méthodes publiées avant le 14 janvier 2014 ont deux chiffres à la fin de la codification de la méthode (ex. : MA. 203 – As 3.4). Le premier chiffre désigne le numéro de la méthode (3) et le deuxième chiffre désigne le numéro de l'édition (4).

Référence à citer :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.
Détermination de la demande biochimique en oxygène: méthode électrométrique, MA. 315 –
DBO 1.1, Rév. 3, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et de la Lutte
contre les changements climatiques du Québec, 2014, 11 p.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
2700, rue Einstein, bureau E.2.220
Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301
Télécopieur : 418 528-1091
Courriel : ceaeq@mddelcc.gouv.qc.ca

© Gouvernement du Québec, 2014

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. INTERFÉRENCE	6
4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION	6
5. APPAREILLAGE	6
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	6
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	8
7.1. Préparation et prétraitement des échantillons	8
7.2. Calibration de l'électrode à oxygène	9
7.3. Dosage	9
7.4. Préparation spéciale de la verrerie	10
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	10
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	10
10. BIBLIOGRAPHIE	11

INTRODUCTION

La demande biochimique en oxygène est la mesure de la quantité d'oxygène requise pour oxyder la matière organique (végétale, animale, etc.), de même que la matière inorganique (sulfures, sels ferreux, etc.) dans un échantillon aqueux. C'est un paramètre très utilisé dans le contrôle de la pollution organique provenant des effluents industriels et urbains ainsi que des rejets des fabriques de pâtes et papiers.

La détermination de la demande biochimique en oxygène est exigée dans les règlements suivants : Règlement sur les attestations d'assainissement en milieu industriel, Règlement sur l'enfouissement et l'incinération des matières résiduelles, Règlement sur l'évacuation et le traitement des eaux usées de résidences isolées et Règlement sur les fabriques de pâtes et papiers.

Cette méthode est tirée de la méthode « 5-Day BOD test » de *Standard Methods for the examination of water and wastewater*.

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode sert à déterminer la demande biochimique en oxygène dans les effluents industriels.

La limite de détection rapportée est de 1 mg/l O₂ et le domaine d'application se situe entre 1 mg/l O₂ et 9 mg/l O₂ lors de l'utilisation de 200 ml d'échantillon. Des concentrations plus élevées peuvent être rapportées en utilisant des volumes d'échantillons plus petits.

2. PRINCIPE ET THÉORIE

La DBO₅ est la mesure de la consommation d'oxygène d'un effluent après cinq jours d'incubations à 20 °C. La consommation d'oxygène de l'échantillon provient de la dégradation des molécules organiques et de l'oxydation des molécules inorganiques comme les sulfures, les ions ferreux et les différentes formes de composés azotés.

La méthode consiste à déterminer la quantité d'oxygène consommée par la matière oxydable à l'aide de bactéries acclimatées pendant une période de 5 jours d'incubation à une température de 20 °C. Une étude a démontré qu'un ensemencement commercial (ex. : Polyseed) ne peut être utilisé avec des échantillons qui ont été congelés. Dans ce cas, l'ensemencement naturel composé de l'affluent décanté d'une usine d'épuration doit être utilisé.

Afin d'équilibrer la quantité de matières oxydables et d'oxygène disponible, un volume approprié d'échantillon est placé dans une bouteille en verre de 300 ml en présence de bactéries et de substances nutritives. La concentration de l'oxygène dissous est mesurée par électrométrie au début et à la fin de la période d'incubation. La quantité d'oxygène consommée est proportionnelle à la concentration de matières oxydables.

La DBO₅ carbonée est la mesure de la DBO₅ obtenue après l'ajout d'un inhibiteur de bactéries nitrifiantes.

3. INTERFÉRENCE

La présence d'une grande quantité de certains métaux (chrome, cuivre, mercure, nickel, plomb, zinc), de bactéricides (phénols, formaldéhyde, chlore, cyanures) ou de chlore résiduel conduisent à une sous-estimation de la DBO₅. Aucune vérification systématique des interférences n'est faite.

4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION

Prélever un volume d'un litre d'échantillon représentatif dans un contenant de plastique **exempt de contaminants**.

Aucun agent de conservation n'est ajouté à l'échantillon. Celui-ci se conserve pendant 48 heures **en le réfrigérant entre 0 °C et 6 °C** ou pendant 6 mois **en le congelant à une température d'environ - 15 °C**.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Incubateur pourvu d'un régulateur thermostatique réglé à une température de 20 °C ± 1 °C
- 5.2. Bouteilles à D.B.O. d'une capacité de 300 ml, munies d'un bouchon à joint rodé
- 5.3. Électromètre à oxygène avec une électrode à oxygène avec une plaque magnétique agitatrice ou appareil automatisé
- 5.4. Aérateur
- 5.5. Cuillère calibrée à environ 0,16 g

6. RÉACTIFS ET ÉTALONS

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité ACS. L'eau utilisée pour la préparation des réactifs est de l'eau distillée ou déminéralisée.

À moins d'indication contraire, les solutions préparées peuvent se conserver indéfiniment à la température ambiante. Cependant, elles doivent être refaites si un changement de couleur est noté ou s'il y a formation de précipité.

- 6.1. Acide sulfurique, H₂SO₄ (CAS n° 7664-93-9)
- 6.2. Chlorure d'ammonium, NH₄Cl (CAS n° 12125-02-9)
- 6.3. Chlorure de calcium anhydre, CaCl₂ (CAS n° 10043-52-4)
- 6.4. Chlorure ferrique, FeCl₃•6H₂O (CAS n° 10025-77-1)
- 6.5. Hydroxyde de sodium, NaOH (CAS n° 1310-73-2)

- 6.6. Phosphate de potassium monobasique, KH_2PO_4 (CAS n° 7778-77-0)
- 6.7. Phosphate de potassium dibasique, K_2HPO_4 (CAS n° 7758-11-4)
- 6.8. Phosphate de sodium dibasique, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 7782-85-6)
- 6.9. Sulfate de magnésium, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 10034-99-8)
- 6.10. Sulfite de sodium, Na_2SO_3 (CAS n° 7757-83-7)
- 6.11. 2-chloro-6-(trichlorométhyl) pyridine (TCMP) (CAS n° 1929-82-4)

Note – L'utilisation du TCMP mélangé avec des substances inertes acheté commercialement est favorisée.

- 6.12. Affluent d'une usine d'épuration (semence bactérienne)

Cet affluent se conserve environ un mois à **environ** 4 °C. Filtrer sur de la laine de verre lors de l'utilisation.

- 6.13. Solution de sulfate de magnésium

Peser précisément environ 22,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (cf. 6.9) et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

- 6.14. Solution de chlorure de calcium

Peser précisément environ 27,5 g de CaCl_2 (cf. 6.3) anhydre et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

- 6.15. Solution de chlorure ferrique

Peser précisément environ 0,25 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (cf. 6.4) et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

- 6.16. Solution tampon de phosphate

Peser précisément environ 8,5 g de KH_2PO_4 (cf. 6.6), 21,75 g de K_2HPO_4 (cf. 6.7), 33,4 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (cf. 6.8), 1,7 g de NH_4Cl (cf. 6.2) et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Le pH de ce tampon doit se situer aux environs de 7,2.

- 6.17. Solution de sulfite de sodium

Peser précisément environ 1,575 g de Na_2SO_3 (cf. 6.10) et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve 24 heures.

6.18. Eau de dilution

Incuber une cruche contenant de l'eau distillée, à 20 °C, pendant une nuit; ensuite introduire l'équivalent de 1 ml/litre d'eau de chacune des solutions suivantes : solution tampon de phosphate (cf. 6.16), solution de sulfate de magnésium (cf. 6.13), solution de chlorure de calcium (cf. 6.14) et solution de chlorure ferrique (cf. 6.15). Saturer cette eau en oxygène en y faisant barboter de l'air à grand débit avec un aérateur pendant l'équivalent de 5 min **par** litre d'eau.

Cette solution doit être préparée à chaque utilisation.

7. PROTOCOLE D'ANALYSE

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie*, DR-12-SCA-01, sont suivies pour s'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.). Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

7.1. PRÉPARATION ET PRÉTRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS

7.1.1. Acides ou bases

Homogénéiser l'échantillon et ajuster le pH d'une portion de chaque échantillon à 7 ± 1 au moyen d'une solution de NaOH ou de H₂SO₄ de concentration appropriée.

7.1.2. Chlore résiduel

Lorsque l'on soupçonne la présence de chlore dans l'échantillon, celui-ci est traité en ajoutant du sulfite de sodium.

Homogénéiser l'échantillon et ajouter 1 ml de la solution de sulfite de sodium (cf. 6.17) par 250 ml d'échantillon. Vérifier la présence de chlore. Ajouter, si nécessaire, la solution de sulfite de sodium jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de chlore.

7.1.3. Filtration pour DBO₅ dissous

Lors de la demande de la DBO₅ dissous, filtrer une portion de l'échantillon **sur un filtre Whatman 934 AH**.

7.1.4. Ajout de TCMP pour DBO₅ carbonée

Pour l'analyse de la DBO₅ carbonée, remplir la bouteille au deux tiers et ajouter une cuillère d'environ 0,16 g de TCMP (cf. 6.11) dans chacune des bouteilles (incluant les bouteillesensemencées avec la semence bactérienne (cf. 6.12) et les bouteilles d'échantillons de contrôle). Compléter la bouteille avec l'eau de dilution (cf. 6.18)

7.2. CALIBRATION DE L'ÉLECTRODE À OXYGÈNE

Effectuer la calibration de l'électrode à chaque utilisation en suivant les indications fournies par le fabricant.

7.3. DOSAGE

Le volume d'échantillon à ajouter dans les bouteilles est évalué à partir du résultat de la demande chimique en oxygène (DCO). Le tableau suivant précise le volume approximatif d'échantillon qui doit être utilisé en fonction du résultat de la DCO.

Volume d'échantillon dilué à 300 ml	DCO mg/l O ₂	Volume d'échantillon dilué à 300 ml	DCO mg/l O ₂
0,03	20 000 - 70 000	0,02	30 000 - 150 000
0,06	10 000 - 35 000	0,05	12 000 - 42 000
0,15	4 000 - 14 000	0,10	6 000 - 21 000
0,30	2 000 - 7 000	0,20	3 000 - 10 000
0,60	1 000 - 3 500	0,50	1 200 - 4 200
1,5	400 - 1 400	1,0	600 - 2 100
3,0	200 - 700	2,0	300 - 1 050
6,0	100 - 350	5,0	120 - 420
15	40 - 140	10	60 - 210
30	20 - 70	20	30 - 105
60	10 - 35	50	12 - 42
150	4 - 14	100	6 - 21
300	0 - 7		

- Homogénéiser l'échantillon qui a été préparé selon les étapes 7.1.1 à 7.1.3 et effectuer les dilutions nécessaires. S'il faut mesurer 3 ml ou moins, faire une dilution 1/10, 1/100, etc., et mesurer en conséquence; par exemple, prendre 20 ml d'une dilution par 100, au lieu de pipetter 0,2 ml de l'échantillon nature.
- Ajouter 2 ml de la solution de semence bactérienne (cf. 6.12) et compléter à 300 ml avec de l'eau de dilution (cf. 6.18). De la même façon, préparer des solutions témoins contenant uniquement de l'eau de dilution ainsi que des solutions témoins contenant de l'eau de dilution et 2 ml de la solution de semence bactérienne.
- Attendre environ 10 minutes avant de prendre la première lecture.
- Mesurer l'oxygène dissous.
- Boucher hermétiquement la bouteille avec le bouchon de verre à joint rodé. S'assurer qu'il y ait un surplus d'eau dans le goulot évasé de la bouteille.
- Presser un capuchon de polyéthylène sur le goulot de la bouteille pour prévenir l'évaporation pendant l'incubation.

- Vider complètement la cruche d'eau de dilution et la rincer 2 à 3 fois à l'eau distillée et la ranger à l'envers. Aussi, rincer la tige de verre de l'aérateur avant de la ranger.
- Rincer soigneusement la vaisselle utilisée pour la semence bactérienne.
- Après cinq jours, sortir les échantillons, les solutions témoins et la solution étalon de l'incubateur.
- Enlever les capuchons de polyéthylène, retenir fermement le bouchon de verre en place et inverser la bouteille pour se débarrasser du surplus d'eau qui a résidé dans le goulot pendant l'incubation.
- Lire la quantité d'oxygène dissous final avec l'électrode en suivant les instructions du manufacturier.

Les résultats sont valides lorsque la concentration résiduelle d'oxygène est d'au moins 1 mg/l O₂ et lorsque au moins 1 mg/l O₂ a réagi durant la période d'incubation.

7.4. PRÉPARATION SPÉCIALE DE LA VERRERIE

Aucun soin autre que le lavage et le séchage de la verrerie n'est nécessaire pour la détermination de la DBO₅.

8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS

$$E: \frac{(D_1 - D_2) - (B_1 - B_2)}{V} \times 300$$

où

- E : demande biochimique en oxygène de l'échantillon (mg/l O₂);
- D₁ : concentration d'oxygène dissous initial de l'échantillon dilué (mg/l);
- D₂ : concentration d'oxygène dissous final de l'échantillon dilué (mg/l);
- V : volume de l'échantillon utilisé (ml);
- 300 : volume de la bouteille à DBO (ml);
- B₁ : concentration d'oxygène dissous initial contenu dans le témoin du milieu bactérien;
- B₂ : concentration d'oxygène dissous final contenu dans le témoin de milieu bactérien (mg/l).

9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

Les critères d'acceptabilité sont définis dans le document DR-12-SCA-01 et sont appliqués comme suit :

- Le blanc d'eau de dilution avec l'ensemencement ne doit pas excéder une consommation de 1,0 mg/l O₂ après 5 jours d'incubation.

- En ce qui concerne les matériaux de référence et les matériaux de référence certifiés, les résultats doivent se situer dans l'intervalle défini par le responsable désigné.
- Les résultats obtenus pour l'analyse de duplicatas ou répliqués ne doivent pas différer de plus de 20 % entre eux lorsqu'ils sont supérieurs à au moins dix fois la limite de **quantification**.

10. BIBLIOGRAPHIE

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION AND WATER ENVIRONMENT FEDERATION. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 22nd Edition, 2012.

ASSOCIATION CANADIENNE DES LABORATOIRES D'ESSAIS, COMMUNAUTÉ URBAINE DE MONTRÉAL, MINISTÈRE DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA FAUNE DU QUÉBEC. *Effets de la préservation des échantillons et de l'inhibiteur de la nitrification sur la DBO₅ des eaux municipales*, Décembre 1996.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Détermination de la demande chimique en oxygène dans les effluents : méthode colorimétrique avec le bichromate de potassium*, MA. 315 – DCO 1.1, ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/methodes/pdf/MA315DCO11.pdf>

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie*, DR-12-SCA-01, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12SCA01_lignes_dir_chimie.pdf

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, DR-12-VMC, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12VMC_protocole_val_chimie.pdf

HACH. *HQD Portable Meter, manuel d'utilisation de base*, Juin 2013, 4e édition.

ORION, *Instruction Manual for Model 97-08 Oxygen Electrode*, 1989.

THERMO AUTOMATION SYSTEMS. *Auto EZ*, Software revision 1.4, 2001.