



Organic matter biodegradation along the aquatic continuum sewer system - waste water treatment plant - river

Jérôme Dispan

► To cite this version:

Jérôme Dispan. Organic matter biodegradation along the aquatic continuum sewer system - waste water treatment plant - river. Sciences of the Universe [physics]. Ecole des Ponts ParisTech, 2003. English. NNT: . pastel-00000954

HAL Id: pastel-00000954

<https://pastel.hal.science/pastel-00000954>

Submitted on 20 Dec 2004

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.



Mémoire de thèse présenté pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'ECOLE NATIONALE DES PONTS ET CHAUSSEES

Spécialité : Sciences et Techniques de l'Environnement

**BIODEGRADABILITE DE LA MATIERE ORGANIQUE DANS
LE CONTINUUM AQUATIQUE RESEAU
D'ASSAINISSEMENT - STATION D'EPURATION - MILIEU
NATUREL RECEPTEUR**

:

**Développement d'une méthodologie pour le fractionnement de la
matière organique en classes de biodégradabilité**

Par

Jérôme DISPAN

Thèse soutenue le 2 octobre 2003 devant le jury composé de :

M. Jean-Marie MOUCHEL

Président

M. Pierre SERVAIS

Directeur de thèse

M. Jean-Claude BLOCK

Rapporteur

M. Etienne PAUL

Rapporteur

Mme Sylvie GILLOT

Examineur

A mon père.

REMERCIEMENTS

J'ai effectué ce travail de recherche au Centre d'Enseignement et de Recherche Eau Ville Environnement (CEREVE) commun à l'Ecole Nationale des Ponts et Chaussées, l'Ecole Nationale du Génie Rural des Eaux et Forêts et à l'Université Paris XII. Cette recherche a été réalisée dans le cadre de l'Ecole Doctorale Ville Environnement.

Tout d'abord, je tiens à remercier Jean-Marie Mouchel et Pierre Servais qui ont su me guider et me soutenir dans ce travail difficile.

Mes remerciements s'adressent également à Marie-Hélène Tusseau, ingénieur de recherche au CEMAGREF, et Isabelle Charpentier, chargée de recherche au CNRS, qui ont participé à l'élaboration de publications présentes dans ce travail avec beaucoup de compétences, de dynamisme et de bonne humeur.

Je remercie Etienne Paul, Professeur à l'INSA de Toulouse, et Jean-Claude Block, professeur à l'Université de Nancy, d'avoir accepté d'être rapporteur de ce travail, leur lecture attentive de mon mémoire a donné lieu à des critiques pertinentes lors de la soutenance.

Je remercie également Sylvie Gillot, ingénieur de recherche au CEMAGREF, pour le temps qu'elle a consacré à la lecture de la thèse et pour sa participation au jury.

Cette recherche a été possible grâce au soutien financier des organismes suivants : le Ministère de l'Education et de la Recherche, l'Ecole Nationale des Ponts et Chaussées et le programme PIREN-Seine du CNRS.

Je remercie toutes les personnes du CEREVE : elles ont réellement été formidables et m'ont été d'un soutien permanent durant toutes ces années. Je remercie particulièrement Virginie, Fabien, Claire O., Claire R., Nassima (les 3 puzzle bubbles girls), Hélène, Catherine C., Catherine G., Catherine L., Marc, Stéphane, Denis, Bastien, Yelva et Jaouad (la bab' team), Laurence, Mohamed, Elvira, Danielle, Sonia, Karine S., Fabienne Lagarde (et son fameux « ASM14 »). J'exprime ma profonde gratitude à Michèle, François, Laure et Pauline qui ont été des voisins formidables, une deuxième famille. Un grand merci à mes amis du Sud-Ouest : Nathalie et Jean-Marc, Felipe, Philippe et Elodie, David et Karine ainsi qu'à ma tante Françoise qui ont effectué le déplacement pour venir me supporter et me donner du courage le « jour J ».

J'exprime ma profonde reconnaissance aux piliers de cette réussite : ma mère qui m'a toujours soutenu dans les moments difficiles et m'a donné beaucoup de courage, ma sœur Nathalie qui m'a donné la force de soulever des montagnes grâce à sa présence et à tout son amour, Jérôme, toute ma famille et mes amis qui m'ont donné un soutien énorme.

Je rends enfin un hommage à mon père qui aurait été très fier et très heureux d'assister à la soutenance.

RESUME

Ce travail est une contribution à la mise au point d'un outil de caractérisation de la biodégradabilité de la matière organique dissoute des eaux. La méthodologie développée vise à être applicable sur tout le continuum aquatique, formé par le réseau d'assainissement, la station d'épuration et le milieu naturel récepteur, dans le but de répondre aux besoins de gestion intégrée de la pollution domestique urbaine.

La méthodologie développée résulte du couplage de deux méthodes de caractérisation de la biodégradabilité de la matière organique : la méthode respirométrique développée par Xu et Hasselblad (1996) qui permet de quantifier la fraction de matière organique rapidement biodégradable et la méthode en batch de Tusseau et al. (2003) qui permet de quantifier les fractions réfractaire et biodégradable. L'interprétation des données expérimentales se fait via l'utilisation d'un modèle mathématique (modèle ASM3 développé par un groupe de travail de l'International Water Association – IWA). Une méthode d'assimilation de données, basée sur la théorie du contrôle optimal, nous a permis de combiner de façon optimale modèle et résultats des deux méthodes afin d'aboutir à un fractionnement de la matière organique en classes de biodégradabilité.

Les résultats obtenus lors de la biodégradation d'un substrat rapidement biodégradable (l'acétate), noté S_s dans le modèle, ont permis de valider le bon fonctionnement du modèle ASM3 et de développer un modèle dérivé (modèle ASM3z).

Par la suite, ce modèle a encore été modifié pour permettre la bonne simulation et l'interprétation des résultats expérimentaux obtenus sur des eaux usées domestiques prélevées en entrée et sortie d'une station d'épuration. Cette modification a consisté à ajouter un compartiment de matière organique dissoute (noté S_2) plus lentement biodégradable que S_s et ce nouveau modèle est noté ASM3z_2. Les résultats obtenus sont satisfaisants et montrent qu'il est possible de quantifier S_2 et S_s , dans des eaux usées domestiques en utilisant des expériences réalisées avec une large gamme de rapports substrat/biomasse bactérienne (S_0/X_0).

Enfin ce modèle a été appliqué, lors d'une même optimisation, sur des eaux usées brutes, des eaux traitées et des eaux de rivière. Ce travail a mis en évidence l'importance de parvenir à une excellente homogénéisation de la biomasse utilisée lors des tests respirométriques.

Mots clés : Caractérisation des eaux usées, fractionnement de la matière organique, biodégradation, optimisation, modélisation, ASM3, single-OUR method, ratio S_0/X_0 .

ABSTRACT

This work is about the characterisation of dissolved organic matter biodegradability. The developed methodology is available along the aquatic continuum sewer system – waste water treatment plant – river in order to respond to the needs of integrated management for the urban domestic pollution.

The developed methodology results of the coupling of two methods for the characterisation of organic matter biodegradability : the respirometric method developed by Xu et Hasselblad (1996) to assess the readily biodegradable organic matter fraction and the batch method of Tusseau et al. (2003) to measure the inert fraction. An optimisation method, based on the optimal control theory, is used to combine optimally the ASM3 model (developed by the International Water Association) and experimental data in order to fractionate organic matter in classes of biodegradability.

Experiments were conducted to revisit the degradation of acetate (called S_s in ASM3) by waste water treatment plant sludges. So, we valid the correct fonctionnement of ASM3 and develop a derived model (modèle ASM3z).

Futhermore, we introduced a new dissolved organic matter compartment (S_s type) in ASM3, called S_2 . S_2 degradation induces supplementary oxygen consumption when storing it in cell and consequently permits to simulate the wastewater biodegradability in a best way. This new model is called ASM3z_2.

Results obtained with ASM3z_2 are reliable and show that is possible to quantify the different organic matter fractions (S_2 and S_s), in wastewater and river water.

Keywords : Wastewater characterisation, organic matter fractionation, biodegradation, optimization, modelling, ASM3, single-OUR method, S_0/X_0 ratio.

SOMMAIRE

Chapitre1 : INTRODUCTION.....	11
Chapitre 2 : HISTOIRE ET PRINCIPES GENERAUX DES MODELES.....	15
1. Modèles de réseau d’assainissement.....	17
1.1. MOUSETRAP.....	17
1.2. HYDROWORKS DM.....	19
1.3. Un modèle conceptuel décrivant la biodégradation de la MO.....	20
2. Modèles de station d’épuration : Activated Sludge Model.....	21
2.1. ASM1 (Henze et al., 1987).....	21
2.2. ASM2 (Henze et al., 1995).....	26
2.3. ASM3 (Gujer et al., 1999).....	27
3. Les modèles de rivière.....	29
3.1. QUAL2 et MIKE 21.....	30
3.2. Le modèle RIVE.....	31
4. l’hydrolyse exoenzymatique.....	36
5. Conclusions	39
Chapitre 3 : PROBLEMATIQUE / OBJECTIFS.....	41
1. Variables utilisées dans les modèles de biodégradation pour représenter la matière organique.....	43
2. Techniques de fractionnement de la matière organique en classes de biodégradabilité...	44
2.1.Les techniques batch.....	44
2.2. Les essais basés sur la respirométrie.....	46
2.3. Autres méthodes.....	51
3. Les différences des concepts entre les modèles HSB et ASM.....	51
4. Les complémentarités des concepts entre les modèles HSB et ASM	53
5. Les objectifs.....	54
6. A la recherche d’une technique de caractérisation de la biodégradabilité de la matière organique applicable sur tout le continuum.....	55

Chapitre 4 : METHODOLOGIE.....	61
1. Procédure expérimentale.....	63
1.1. Méthodologie pour estimer la fraction de matière organique biodégradable dans une eau usée ou de rivière.....	63
1.2. Méthodologie pour estimer la fraction de matière organique rapidement dégradable dans une eau usée ou une eau de rivière.....	65
1.2.1. Instrumentation.....	65
1.2.2. Préparation de la boue.....	66
1.2.3. Préparation de la dilution.....	68
1.2.4. Estimation de la biomasse.....	68
1.2.5. Dilution de la boue primaire.....	69
2. Optimisation mathématique des simulations d'expériences.....	70
2.1. Procédure pour l'estimation des valeurs des paramètres et des conditions initiales des variables d'un modèle.....	70
2.2. Calcul du gradient de J.....	71
2.3. Mise en œuvre pratique.....	73
Chapitre 5 : RESULTATS ET DISCUSSION.....	75
1. Modélisation de la dégradation de l'acétate.....	77
1.1. Expérimentations et observations.....	77
1.2. Estimations du taux de croissance.....	78
1.3. Estimations du rendement de croissance.....	78
2. Modélisation de la biodégradation de l'acétate avec ASM1.....	80
2.1. Hypothèses de fonctionnement du modèle.....	80
2.2. Résultats des optimisations.....	81
3. Modélisation de la biodégradation de l'acétate avec ASM3.....	83
3.1. Simplifications et hypothèses de fonctionnement du modèle.....	83
3.2. Position du problème.....	84
3.3. Corrélations des paramètres.....	84
3.4. Effet miroir du profil OUR et amélioration d'ASM3.....	85
4. Conclusions sur la biodégradabilité de l'acétate.....	87

5. Caractérisation de la biodégradabilité des eaux usées.....	87
5.1. Les effets d'un rapport S_0/X_0 variable.....	88
5.2. Comparaison des cinétiques de dégradation de l'acétate et des eaux usées.....	88
5.3. Résultats des optimisations.....	89
5.4. Conclusions.....	93
6. Caractérisation de la biodégradabilité des eaux usées sur le continuum.....	93
6.1. Description du site et de l'échantillonnage.....	93
6.2. Optimisation avec le jeu de paramètres définis dans la article 3.....	94
6.3. Discussion.....	95
6.4. Conclusions.....	99
 Chapitre 6 : CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES.....	 101
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	107
ANNEXES (Publication et articles).....	119

LISTE DES PUBLICATIONS

Publication 1 :

Biodegradable fraction of organic carbon estimated under oxic and anoxic conditions.

M.-H. Tusseau-Vuillemin, J. Dispan, J.-M. Mouchel et P. Servais. Water Research. 37 (2003) 2242-2247.

Article 2 :

Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge. I. A methodology to assess model parameters.

J. Dispan, J.-M. Mouchel, I. Charpentier et P. Servais.

Soumis à Water Research le 19 juillet 2002.

Article 3 :

Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge : II. A modeling study using ASM3.

J. Dispan, J.-M. Mouchel, I. Charpentier et P. Servais.

Soumis à Water Research le 19 juillet 2002.

Article 4 :

Characterisation of wastewater biodegradability : how robust are models to variable S_0/X_0 ratios.

J. Dispan, J.-M. Mouchel et P. Servais.

Soumis à Urban Water.

Article 5 :

Evaluation de la biodégradabilité des matières organiques dissoutes dans un continuum réseau d'assainissement-station d'épuration-rivière

J. Dispan, J.-M. Mouchel et P. Servais.

Soumis à la Revue des Sciences de l'Eau.

LISTE DES FIGURES ET DES PHOTOS

Figure 2- 1 : Concept décrivant la biodégradation de la matière organique en réseau d'assainissement (Vollertsen, 1998).....	21
Figure 2- 2 : Concept décrivant la biodégradation de la matière organique dissoute (MOD) et particulaire (MOP) dans ASM 1 (d'après Henze et al., 1987).....	22
Figure 2- 3 : Concept décrivant la biodégradation de la matière organique dans ASM3 (Gujer et al., 1999).....	27
Figure 2- 4 : Représentation schématique de la description de la biodégradation de la matière organique dans le modèle HSB (Billen et Servais, 1989).....	31
Figure 2- 5 : Variation de MS/S_{TOT} en fonction de M.....	37
Figure 3- 1 : Exemple d'évolution de la biomasse bactérienne lors d'un essai (eau potable ; échantillons provenant de l'usine de traitement de Méry-sur-Oise).....	46
Figure 3- 2 : Schéma du réacteur aérobie utilisé pour caractériser la matière organique rapidement biodégradable (d'après Ekama et al., 1986).....	47
Figure 3- 3 : OUR obtenu lors d'un ajout cyclique (12 heures avec ajout / 12 heures sans ajout) d'eaux usées (d'après Ekama et al., 1986).....	48
Figure 3- 4 : Exemple d'OUR lors d'un test dans un réacteur aérobie pour la mesure de matière organique rapidement biodégradable (d'après Ekama et al., 1986).....	49
Figure 3- 5 : Suivi de la concentration en oxygène avec la « single-OUR method » (d'après Xu et Hasselblad, 1996).....	50
Figure 3- 6 : Courbe de calibration obtenue avec de l'acide acétique (d'après Xu et Hasselblad, 1996).....	50
Figure 3- 7 : Teneur en oxygène dissous en fonction du temps pour diverses valeurs du taux de recyclage de la biomasse en matière organique particulaire.....	53
Figure 3- 8 : Comparaison des caractérisations de la biodégradabilité de la matière organique.....	55
Figure 3- 9 : Production de C-CO ₂ simulée par les modèles HSB, ASM1 et ASM3 en présence de 40 mgC/l de biomasse bactérienne et 5 mgC/l de carbone organique dissous biodégradable.....	58
Figure 3- 10 : Production de C-CO ₂ simulée par HSB, ASM1 et ASM3 en présence de 1 mgC/l de biomasse bactérienne.....	58
Figure 4- 1 : Cinétique de dégradation pour des eaux usées brutes durant 45 jours d'incubation en conditions oxygènes et anoxiques.....	64

Photo 4- 1 : Réacteur utilisé lors du suivi respirométrique	66
Figure 4- 2 : Evolution typique de l'OUR dans une boue primaire diluée d'un facteur 7...	67
Figure 4- 3 : Taux de consommation en oxygène en fonction de la dilution de la boue...	69
Figure 5- 1 : Exemple de profil respirométrique obtenu avec la « single OUR method» lors d'un ajout d'acétate (la boue est diluée d'un facteur 7).....	77
Figure 5- 2 : Consommation d'oxygène cumulée pour les diverses dilutions.....	79
Figure 5- 3 : Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM1.....	81
Figure 5- 4 : Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM3z modifié tel que décrit dans le texte.....	86
Figure 5- 5 : Comparaison des consommations relatives d'oxygène lors de la biodégradation de l'acétate et d'eaux usées.....	89
Figure 5- 6 : Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM3 et les paramètres de Henze et al. (2000) fixés.....	90
Figure 5- 7 : Comparaison des données de DCO expérimentales et simulées avec ASM3 et les paramètres de Henze et al. (2000) optimisés sauf f_{SL} , f_{XL} , Y_{STO} et Y_H qui sont fixés.	91
Figure 5- 8 : Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM3z_S2 et les paramètres de la article 2 fixés.....	92
Figure 5- 9 : Comparaison des données de DCO expérimentales et simulées avec ASM3z_S2 et les paramètres de la article 2 fixés.....	92
Figure 5- 10 : Exemples de résultats de simulations obtenues avec le jeu de paramètres de départ, pour quelques échantillons caractéristiques. (a) Eaux usées traitées en entrée de la station d'Aulnoy, (b) eaux usées en entrée de la station de Couilly, (c) eaux de rivière, station R5, (d) eaux de rivière, station R8.....	95
Figure 5- 11 : Evolution du fractionnement entre S et S ₂ en fonction de la valeur choisie pour k_{STO2} . La valeur k_{STO} est de 0,261 h ⁻¹ dans ces simulations.....	96
Figure 5- 12 : OUR simulées pour les eaux d'entrée et de sortie des stations de Couilly et Bouleurs après ajustement des paramètres liés à S. Dans ces simulations, les quantités de boues sont considérées comme indépendantes pour chaque essai, ce qui correspond à une quantité de biomasse initiale à caler également, comme S et S ₂	98
Figure 5- 13 : Propagation des erreurs liées à la DCOR. Illustration à partir de données de la station de Couilly entrée (a) et sortie (b).....	99

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2- 1 : Cinétique et stœchiométrie de la dégradation de la matière organique en aérobiose tel que décrite dans le modèle ASM 1(d'après Henze et al.,1987).....	23
Tableau 2- 2 : Valeurs des paramètres d'ASM1 suggérées par le groupe de travail de l'IWA (Henze et al., 1987).....	26
Tableau 2- 3 : Cinétique et stœchiométrie de dégradation de la matière organique dans ASM 3 (d'après Gujer et al., 1999).....	28
Tableau 2- 4 : Valeurs des paramètres d'ASM3 suggérées par le groupe de travail de l'IWA (d'après Gujer et al., 1999).....	29
Tableau 2- 5 : Cinétique et stœchiométrie de dégradation du carbone dans le modèle HSB (d'après Billen et Servais, 1989).....	32
Tableau 2- 6 : Valeur des paramètres utilisés dans HSB (Servais, 1986).....	33
Tableau 2- 7 : Cinétique de production et de consommation de S en conditions saturantes en S, HD1 et HD2 avec le modèle HSB.....	35
Tableau 5- 1 : Estimations et incertitudes des paramètres.....	81
Tableau 5- 2 : Valeurs des paramètres optimaux et coefficients de corrélation pour ASM3z avec les paramètres suivants fixés : $f_{SI}=0$, $f_{XI}=0.2$, $k_H=0.125h^{-1}$, $K_X=1$, $J=0.180...$	85
Tableau 5- 3 : Valeurs optimales des paramètres pour ASM3z avec adaptation.....	86
Tableau 5- 4 : Paramètres optimisés et variables initiales avec le modèle ASM3z_S2...	93
Tableau 5- 5 : Stations d'épuration étudiées dans le bassin versant du Grand Morin.....	94
Tableau 5- 6 : Résultats d'optimisation obtenus avec le jeu de paramètres défini dans la article 3.....	94
Tableau 5- 7 : Optimisation pour différentes dilutions : Dilu 38.5 = 38.5 ml au lieu de 50 pour les essais R7 et R8 dans les OUR finaux (quasi stabilités) sont plus faibles qu'attendus. Le rapport entre l'OUR final mesuré et l'OUR attendu en fonction de l'OUR du blanc de la dilution de 50 ml est d'environ 38.5/50. Dilu 45, le taux de dilution de R7 et R8 a été porté à 45 ml.....	97
Tableau 5- 8 : Fractionnements obtenus en considérant qu'une boue d'activité indépendante de celle des autres est utilisée pour chaque échantillon.....	97

Chapitre 1 : INTRODUCTION

De nos jours la conception d'ouvrages de collecte et de traitement des eaux usées domestiques, réseaux d'assainissement et stations d'épuration, est pilotée par les objectifs de qualité du milieu récepteur (Harremoës, 1997 ; Somlyódy et al., 2000). En Europe, par exemple, la directive cadre pour la protection des ressources en eau se donne pour objectif général de rechercher une bonne qualité de toutes les eaux de surface et souterraine à l'horizon de deux décennies.

A partir de ces objectifs de qualité pour le milieu récepteur, des critères de qualité pour les effluents de station d'épuration (STEP) doivent être définis. Ces critères vont imposer des contraintes industrielles sur le type d'ouvrage d'assainissement à mettre en place. Apparaît ainsi la notion de gestion intégrée du continuum aquatique formé par le réseau d'assainissement, la station d'épuration et le milieu naturel récepteur (rivière, lac, zone côtière).

En terme de qualité des eaux, la gestion intégrée est rendue possible lorsque l'impact sur l'écosystème aquatique peut être prédit à l'aide de modèles intégrant l'impact du réseau d'assainissement et des actions de traitement en STEP et le milieu récepteur. Par ailleurs, les expérimentations de ces impacts sont difficiles et très coûteuses, il est donc financièrement avantageux de prédire ceux-ci avec un modèle ou des modèles prenant en compte les différentes variables qualitatives et quantitatives décrivant un rejet d'eau usée, mais aussi tous les processus mis en jeu dans le milieu naturel récepteur. Quelques modélisations intégrées prenant en compte l'ensemble du continuum ont été proposées. En général, ces modélisations consistent en une combinaison de modèles de chaque sous-système (réseau, station d'épuration et rivière) qui ont été développés indépendamment avec un objectif propre au système en question. De fait, les scientifiques ont amélioré les performances de chaque sous système sans tenir compte des interactions entr'eux, ce qui n'assure pas nécessairement de bonnes performances de l'ensemble du système (Schütze et al., 1999).

Par exemple, un effort particulier a été fait dans le passé pour modéliser l'hydraulique des réseaux d'assainissement car l'objectif principal était de lutter contre les inondations. La qualité des eaux usées transportées était alors à peine étudiée car les processus biologiques dans le réseau d'assainissement étaient considérés comme secondaires au regard des flux transportés dans les réseaux unitaires. Leur compréhension est de nos jours fondamentale pour disposer de prévisions sur les charges entrantes en STEP afin de mieux dimensionner et mieux gérer ces stations en temps de pluie en particulier.

La biodégradation de la matière organique en milieu aquatique est un processus majeur dans le fonctionnement des écosystèmes, largement étudié à la fois dans le domaine des eaux

naturelles et des eaux usées. Ce processus consommateur d'oxygène peut induire de fortes désoxygénations dans le milieu naturel, voire une anoxie complète ce qui provoque un stress intense pour les organismes vivants dans le milieu. En station d'épuration, l'évaluation de l'intensité de ce processus est essentielle car elle permet d'estimer la demande en oxygène nécessaire pour dégrader les eaux usées et donc la consommation d'énergie qui sera nécessaire pour fournir cet oxygène.

L'objectif de ce travail est de bâtir un outil d'analyse du continuum réseau d'assainissement, STEP, milieu récepteur afin de répondre aux besoins de gestion intégrée de la pollution domestique urbaine. Dans une logique de gestion intégrée de l'ensemble du système d'assainissement, cette thèse est une contribution à l'étude des processus de biodégradation de la matière organique dissoute sur tout le continuum. Intégrer les 3 sous-systèmes (réseau d'assainissement, STEP et milieu récepteur) est encore difficile aujourd'hui puisque les concepts utilisés actuellement ainsi que les variables décrivant la matière organique, pour modéliser les processus de biodégradation de la matière organique dans chaque sous système sont en général assez différents. Avant de comparer ces processus (chapitre 3), un état des connaissances actuelles sur ces modèles est présenté au chapitre 2 suivant. De plus, une réflexion est menée sur les techniques employées dans chaque sous-système pour caractériser la biodégradabilité de la matière organique (chapitre 3). En effet, les méthodes utilisées en STEP par les épurateurs et en rivière par les écologistes sont en général différentes et fournissent donc des informations différentes et pas toujours complémentaires. Dans le chapitre 4, la méthode développée dans ce travail pour fractionner la matière organique dissoute en diverses classes de biodégradabilité est présentée. Les résultats d'application de la méthodologie développée sur des échantillons d'eaux usées brutes, traitées et de rivières sont explicités dans le chapitre 5. Ces 5 chapitres sont suivis d'une conclusion générale de ce travail (chapitre 6) et des annexes (cinq publications réalisées au cours de ce travail) auxquels le lecteur peut se référer pour obtenir des précisions supplémentaires à propos des résultats des travaux mentionnés dans le texte qui suit.

Chapitre 2 : HISTOIRE ET PRINCIPES GENERAUX DES MODELES

Dans ce chapitre, un état des connaissances actuelles concernant les modèles de réseaux d'assainissement, de STEP et du milieu récepteur est présenté.

1. Modèles de réseau d'assainissement

De nombreux logiciels de simulation de l'hydraulique et de la pollution ont été élaborés depuis une trentaine d'années. La description de l'évolution des polluants dans ces modèles est généralement simplifiée et basée sur des réactions de dégradation d'ordre 1.

Le logiciel américain SWMM (Storm Water Management Model) établi initialement par l'EPA (Environmental Protection Agency) (Huber and Dickinson, 1988), très largement diffusé, est le premier d'entr'eux ; il a largement essaimé et inspiré la majorité des travaux dans ce domaine. Dans cette partie, sont passés en revue les modèles MOUSETRAP et HYDROWORKS DM car ce sont, aujourd'hui, les plus utilisés en insistant plus particulièrement sur la description du module qualité. Un modèle conceptuel (Bjerre et al., 1995 ; Vollertsen et al., 1998) décrivant les processus de biodégradation de la matière organique de manière plus élaborée (classée en différentes classes de biodégradabilité) est aussi décrit dans ce chapitre.

1.1. MOUSETRAP

MOUSETRAP (1993) est un modèle danois développé par un groupement européen de quatre organismes : Danish Hydraulic Institute, Water Research Center, VBB Viak de l'Université de Chalmers et SAFEGE (Chahine et al., 1994).

Dans le module qualité, les éléments modélisés sont l'oxygène dissous, la DBO (Demande Biologique en Oxygène) / DCO (Demande Chimique en Oxygène), l'ammonium, les nutriments (N, P), quelques métaux (cadmium, cuivre, plomb), la température, les bactéries (Garsdal et al., 1994).

En conditions aérobies, les processus suivants sont pris en compte :

1) Dégradation de la pollution dissoute (DBO) par les bactéries hétérotrophes en suspension :

$$DBO_{deg\ ra, susp} = \frac{\mu_{max}}{Y_{max}} \cdot \frac{DBO}{(DBO + K_{m, DBO})} \cdot \frac{oxy}{(oxy + K_{m, oxy})} \cdot k_b \cdot DBO_{susp} \cdot \theta^{T-20}$$

Avec :

θ : Coefficient de température

$\mu_{\max}$: taux de croissance maximal à 20°C (d⁻¹)

$Y_{\max}$: rendement de croissance maximum

$K_{m,DBO}$: constante de demi-saturation pour la DBO dissoute (g.m⁻³) ; $K_{m,DBO} = 8 \text{ g DBO.m}^{-3}$

$K_{m,oxy}$: constante de demi-saturation pour l'oxygène dissous (g.m⁻³) ; $K_{m,oxy} = 0.3 \text{ g O}_2.\text{m}^{-3}$

k_b : fraction de bactéries hétérotrophes dans la DBO_{susp} (0.5-1.0)

oxy : oxygène (g O₂.m⁻³)

DBO_{susp} : DBO en suspension dans l'eau usée

T : température (°C)

2) Dégradation de la pollution dissoute (DBO) par les bactéries hétérotrophes attachées (paroi du réseau et sédiments) :

$$DBO_{\text{degra,biofilm}} = \sqrt{2D.k_{of}} \cdot (oxy)^{1/2} \cdot A_{\text{biofilm}} / V \cdot \theta^{T-20}$$

Avec :

D : coefficient de diffusion d'oxygène dans l'eau à 20°C, $D=20\text{m}^2.\text{s}^{-1}$

k_{of} : élimination de l'oxygène dans le biofilm à 20°C, $=3.0 \text{ g.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$

A_{biofilm} : surface de réseau couvert de biofilm (m²)

V : volume d'eau (m³)

L'apport en oxygène est supposé être le facteur limitant pour la dégradation de la matière organique dissoute dans le biofilm.

3) L'hydrolyse des matières en suspension obéit à une réaction du premier ordre :

$$DBO_{\text{hydro}} = k_{hl}.DBO_{\text{susp}}.\theta^{T-20}$$

Avec :

k_{hl} : constante de dégradation du premier ordre à 20°C (d⁻¹), $k_{hl} = 0.05\text{-}0.1 \text{ d}^{-1}$

DBO_{hydro} : vitesse d'hydrolyse de la DBO_{susp}

- 4) La croissance des bactéries hétérotrophes ($k_b.DBO_{\text{susp}}$) dépend de la dégradation de la DBO dans la phase aqueuse :

$$DBO_{\text{growth}} = Y_{\text{max}}.DBO_{\text{degra,susp}}$$

Avec :

DBO_{growth} : DBO produite lors de la croissance bactérienne

- 5) La réaération

$$REAR = K1.(1+K2.u^2/(g.d_m)).(s.u)^{K3}.d_m^{-1}.(C_S-\text{oxy})$$

Avec :

$K1, K2, K3$: constante de réaération

u : vitesse d'écoulement (m.s^{-2})

g : constante gravité (m.s^{-2})

d_m : hauteur moyenne hydraulique (m)

C_S : concentration d'oxygène à saturation ($\text{g O}_2.\text{m}_3$)

s : pente du réseau (m/m)

- 6) Demande en oxygène des sédiments

La consommation en oxygène des sédiments érodés est modélisée comme étant égal à une constante multipliée par le volume de sédiment érodé.

Le transport des polluants est modélisé en utilisant le modèle de convection-diffusion.

1.2. HYDROWORKS DM

Le logiciel HYDROWORKS DM est né en 1996 de la coopération technique de deux organismes : Anjou Recherche et Hydraulics Research Ltd Wallingford.

Chacun des deux partenaires possédait un outil de modélisation assainissement-pollution, FLUPOL (Bujon, 1988) pour Anjou Recherche et MOSQUITO (Modelling of Stormwater Quality Including Tanks and Overflows) pour HR Wallingford (Moys et al., 1988). Après un comparatif des deux logiciels sur une étude réelle, le logiciel HYDROWORKS a été bâti à partir des modules les plus performants des deux modèles. MOSQUITO est un modèle avec

de nombreux paramètres de calage, parfois très sensibles de surcroît, alors que FLUPOL était fondé sur des concepts simples et une hydraulique simplifiée.

D'un point de vue qualitatif, HYDROWORKS DM a les caractéristiques suivantes :

- Le transport des polluants (matière érodée en suspension et dissoute) est basé sur le principe de conservation de la masse et utilise l'équation de convection-diffusion
- La concentration en polluants dans le réseau est supposée être bien homogène sur toute la section
- Les polluants sont transportés dans le réseau à la vitesse moyenne de l'écoulement
- La dispersion des polluants est négligeable le long du réseau
- Il est possible de prendre en compte jusqu'à 9 polluants dissous (DBO, DCO, ammonium, azote Kjeldahl, phosphore total et 4 autres définis par l'utilisateur). Leur concentration est égale à une fraction de la matière en suspension
- Aucune dégradation physique ou biologique des sédiments et polluants n'est prise en compte

HYDROWORKS DM ne peut être utilisé dans le cadre de cette thèse puisqu'il ne prend pas en compte la biodégradation de la matière organique dans le réseau. La pollution (DBO, DCO, ammonium, azote, phosphore) est transportée dans le réseau sans y subir de transformation.

1.3. Un modèle conceptuel décrivant la biodégradation de la matière organique

Bjerre et al. (1995) ont mis en application le concept d'« Activated Sludge Model » (ASM) (Henze et al., 1987) pour décrire la biodégradation de la matière organique en réseau d'assainissement. En réseau d'assainissement la concentration en biomasse hétérotrophe est faible comparée à celle observée en station d'épuration, alors que la concentration en substrat est très élevée également. Bjerre et al. (1998) ont montré que le fractionnement en trois classes de substrats hydrolysables est nécessaire pour simuler correctement la biodégradation en réseau d'assainissement.

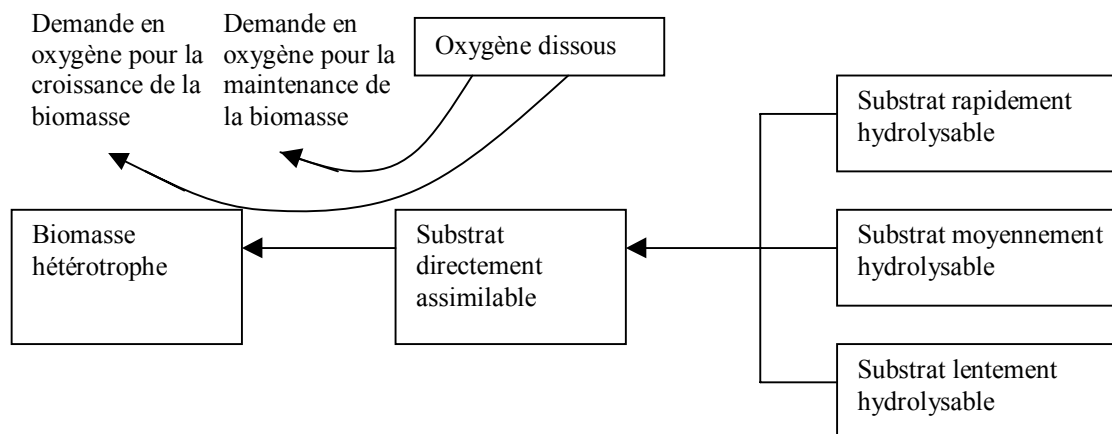


Figure 2- 1 Concept décrivant la biodégradation de la matière organique en réseau d'assainissement (Vollertsen, 1998)

Le concept du modèle (Figure 2- 1) utilisé pour caractériser la matière organique et les processus associés en condition aérobie (Vollertsen and Hvitved-Jacobsen, 1998 ; Vollertsen and Hvitved-Jacobsen, 1999) diffère du concept d'ASM1 (Figure 2- 2) sur quelques points. Le processus de mortalité de biomasse qui génère une consommation secondaire d'oxygène par recyclage de la biomasse morte en substrats biodégradables est remplacé par une consommation directe de maintenance. Trois fractions de substrat organique hydrolysable sont utilisées au lieu d'une seule dans ASM1.

2. Modèles de station d'épuration : Activated Sludge Model

L'International Water Association (IWA) a produit une série de modèles de station d'épuration à boues activées (Henze et al., 1987, 1995 ; Gujer et al., 1999) fondés sur une description détaillée des processus biologiques.

2.1. ASM1 (Henze et al., 1987)

ASM 1 est un modèle simulant au sein d'un système à boues activées les phénomènes tels que l'oxydation du carbone, la nitrification et la dénitrification en quantifiant la cinétique et la stœchiométrie de chaque réaction. Les équations mises en jeu pour décrire la dégradation de la matière organique dans ASM 1 sont regroupées dans le tableau 2- 1 selon la notation recommandée par Grau et al. (1982), le concept est schématisé sur la Figure 2- 2. Dans la matrice, les indices i sont utilisés pour identifier chaque composante : $X_{B,H}$ pour la biomasse, S_s pour le substrat... j correspond à chaque processus : la croissance bactérienne, la mortalité bactérienne et l'hydrolyse de la matière organique particulaire. Les expressions cinétiques de

chaque processus sont mentionnées dans la colonne de droite sur la ligne correspondante. Les éléments à l'intérieur de la matrice sont les coefficients stœchiométriques qui rendent compte du poids de chaque processus dans la production ou de la consommation de chaque composante. Par exemple, pour l'hydrolyse de la matière organique (MOP), X_S est consommée au taux suivant :

$$-1 * k_H \cdot \frac{X_S / X_{B,H}}{K_X + X_S / X_{B,H}} \cdot X_{B,H}$$

et S_S est produit au taux suivant :

$$1 * k_H \cdot \frac{X_S / X_{B,H}}{K_X + X_S / X_{B,H}} \cdot X_{B,H}$$

Ce modèle est basé sur la simulation de la croissance de la biomasse comme moteur principal du processus de dégradation. Le rendement de croissance (Y_H) définit la fraction de matière organique qui est utilisée pour former de la biomasse nouvelle.

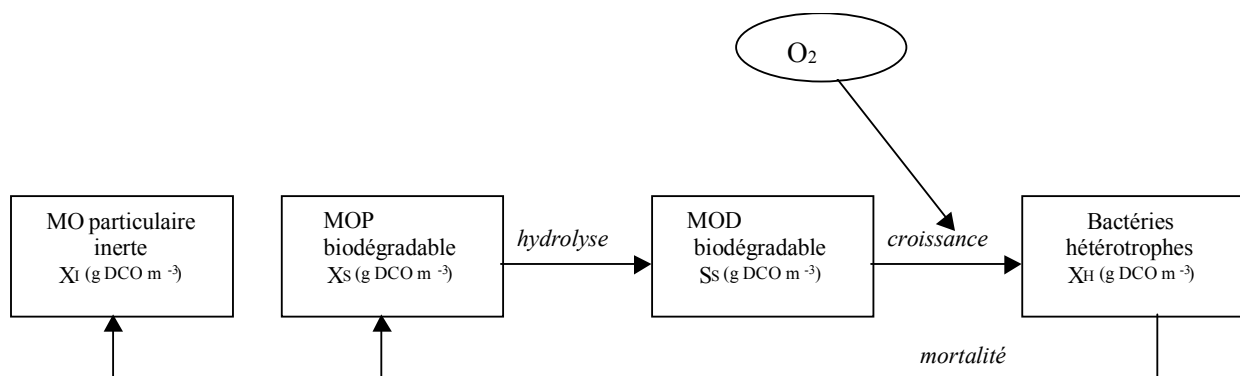


Figure 2- 2 Concept décrivant la biodégradation de la matière organique dissoute (MOD) et particulaire (MOP) dans ASM 1 (d'après Henze et al., 1987)

Composante i →	1	2	3	4	5	6	7	Cinétiques des processus, ρ_j [ML ⁻³ T ⁻¹]
Processus j ↓	S _I (DCO)	S _S (DCO)	X _I (DCO)	X _S (DCO)	X _{B,H} (DCO)	X _P (DCO)	S _O (O ₂)	
1 croissance aérobie des hétérotrophes		$-\frac{1}{Y_H}$			1		$-\frac{1-Y_H}{Y_H}$	$\hat{\mu}_H \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S} \cdot X_{B,H}$
2 mortalités des hétérotrophes				(1-f _p)	-1	f _p		$b_H \cdot X_{B,H}$
3 Hydrolyse de la MOP		1		-1				$k_H \cdot \frac{X_S / X_{B,H}}{K_X + X_S / X_{B,H}} \cdot X_{B,H}$
4 taux de conversion observé [ML ⁻³ T ⁻¹]	$r_i = \sum_j v_{ij} \rho_j$							
paramètres stoechiométriques:								Paramètres cinétiques :
rendement de croissance hétérotrophe : Y _H	Matière organique inerte soluble [M(DCO)L ⁻³]	Substrat rapidement dégradable [M(DCO)L ⁻³]	Matière organique particulaire inerte [M(DCO)L ⁻³]	Matière organique lentement dégradable [M(DCO)L ⁻³]	biomasse hétérotrophe active [M(DCO)L ⁻³]	Produit particulaire provenant de la mortalité bactérienne [M(DCO)L ⁻³]	Oxygène (- O ₂) [M(-O ₂)L ⁻³]	Rendement de croissance et mortalité bactérienne :
Fraction de biomasse recyclée MOP : f _p								$\hat{\mu}_H$: taux de croissance K _S : constante de demi-saturation de S _S b _H : taux de mortalité
								Hydrolyse : k _H : taux d'hydrolyse K _X : constante de demi-saturation de S _S

Tableau 2- 1 Cinétique et stœchiométrie de la dégradation de la matière organique en aérobie tel que décrite dans le modèle ASM 1(d'après Henze et al.,1987).

Dans ASM1 la matière organique est divisée en DCO biodégradable, non-biodégradable et biomasse. La DCO biodégradable est, de plus, subdivisée en matière organique rapidement biodégradable (S_S) et lentement biodégradable (X_S). La fraction rapidement biodégradable est supposée être constituée de molécules simples et solubles pouvant être directement assimilées par les bactéries puis synthétisée en biomasse nouvelle ou transformée en énergie. La fraction lentement dégradable est, quand à elle, constituée de molécules organiques complexes et particulières qui nécessitent une hydrolyse enzymatique avant absorption et utilisation. En réalité, la matière organique lentement dégradable peut être, en partie, sous forme soluble alors qu'elle est considérée, dans le modèle, comme étant totalement particulaire. La fraction de matière organique non-biodégradable est divisée en matière soluble (S_I) et particulaire (X_I). Enfin, X_P représente les produits particuliers inertes produits lors de la mortalité de la biomasse.

Les processus pris en compte dans ASM1 sont décrits ci-dessous :

- *Croissance aérobie des bactéries hétérotrophes :*

Une fraction des substrats rapidement biodégradable (S_S) est consommée pour la croissance de la biomasse hétérotrophe ; l'autre partie de la fraction de S_S est oxydée sous forme de CO_2 pour fournir l'énergie nécessaire à la croissance. La croissance est modélisée en utilisant une cinétique de Monod. L'ammonium est utilisé comme source d'azote pour la croissance et est incorporé dans la biomasse. Les deux concentrations S_S et S_O (concentration en oxygène) peuvent être limitantes pour la croissance.

- *Croissance anoxie des bactéries hétérotrophes :*

En l'absence d'oxygène les bactéries hétérotrophes sont capables d'utiliser les nitrates comme accepteur d'électron pour dégrader S_S . Ce processus donne lieu à une production de biomasse et de N_2 (dénitrification). La même cinétique de Monod que dans le cas de la croissance aérobie est utilisée avec en plus un facteur correctif η_g (<1). Ce facteur correctif réduit la cinétique et rend compte, ainsi, soit d'un taux de croissance plus faible en conditions anoxies soit qu'une fraction de la biomasse, seulement, est capable d'utiliser les nitrates comme accepteurs d'électron.

- *Mortalité des bactéries hétérotrophes :*

Ce processus est modélisé selon le concept considérant une régénération de la matière organique par la mortalité. Les bactéries meurent à un certain taux et une fraction de ce matériel donne lieu à une fraction de matière organique non-biodégradable (X_P). Le reste de la fraction s'ajoute à la fraction de matière organique lentement biodégradable (X_S). Ce processus présente la même cinétique quelles que soient les conditions (aérobie, anoxie ou anaérobie).

- *Hydrolyse de la matière organique particulaire :*

La matière organique lentement biodégradable est hydrolysée en matière organique rapidement biodégradable. Ce processus est modélisé par une réaction de surface et se produit sous conditions aérobie et anoxique. Le taux d'hydrolyse est réduit en conditions anoxiques par rapport aux conditions aérobies à l'aide d'un facteur correctif η_h (<1). La cinétique est du premier ordre par rapport à la biomasse hétérotrophe présente lorsque la biomasse hétérotrophe est en quantité importante par rapport au substrat lentement dégradable ($X_B \gg X_S$) mais sature lorsque la quantité de matière organique lentement dégradable est présente en grande proportion devant la biomasse hétérotrophe.

La publication n°2 (annexe) démontre qu'il existe plusieurs jeux de valeurs de paramètre qui conduisent à la même réponse du modèle. Ceci est dû au fait que certains paramètres présentent une forte corrélation entre eux. De fait, les paramètres ne peuvent pas être ajustés un à un, mais doivent l'être tous simultanément. Par exemple, le taux de croissance et le taux de mortalité sont fortement corrélés : lorsque le taux de croissance et le taux de mortalité augmentent dans les mêmes proportions, la croissance nette reste inchangée.

Cet exemple souligne le fait que des méthodes robustes doivent être mises en œuvre pour identifier et estimer les variables non-mesurables et les paramètres du modèle. Dans ce travail, nous essayerons tout particulièrement de retirer le maximum d'informations des manipulations en laboratoire.

Le Tableau 2- 2 présente les valeurs de paramètres suggérées par le groupe de travail de l'IWA. Ces valeurs sont données à titre indicatif et peuvent varier en fonction des conditions environnementales.

<i>paramètres du modèle</i>	symbole	unité	20°C
rendement de croissance hétérotrophe	Y_H	g DCO biomasse formée.(g DCO oxydée)-1	0,67
fraction de biomasse recyclée en produits particuliers	f_P	sans dimension	0,08
<i>paramètres cinétiques</i>			
taux de croissance spécifique max. hétérotrophe	μ_H	jour ⁻¹	6
taux de mortalité hétérotrophe	b_H	jour ⁻¹	0,62
constante de demi-saturation hétérotrophe	K_S	g DCO.m ⁻³	20
taux d'hydrolyse spécifique max.	k_H	g DCO lentement dégradable.(g DCO biomasse.jour)-1	3
constante de demi-saturation pour l'hydrolyse de X_S	K_X	g DCO lentement dégradable.(g DCO biomasse)-1	0,03

**Tableau 2- 2 Valeurs des paramètres d'ASM1 suggérées par le groupe de travail de l'IWA
(Henze et al., 1987)**

2.2. ASM2 (Henze et al., 1995)

Suite à la directive du 21 mai 1991 relative au traitement des eaux urbaines résiduaires (91/271/CEE) (JOCE du 30/05/1991, L 135/40) fixant de nouvelles contraintes de rejets concernant les pollutions azotées et phosphorées, l'International Water Association (IWA) a proposé le modèle ASM 2 qui répond aux besoins de simulation de l'élimination biologique du phosphore. Les apports d'ASM 2 par rapport à ASM 1 résident dans :

- la description de la structure interne de la biomasse qui permet ainsi d'inclure l'élimination du phosphore par incorporation dans la biomasse.
- En plus du processus biologique, ASM2 distingue 2 processus chimiques qui peuvent être utilisés pour décrire la précipitation chimique du phosphore.

En conditions anaérobies (absence d'oxygène et de nitrate) le substrat rapidement biodégradable (S_F) est transformé en produits de fermentation (S_A).

Ce sont des bactéries hétérotrophes, dont le développement est favorisé par le passage alterné de la biomasse en phase anaérobie et aérobie, qui assurent la déphosphatation biologique. En effet, ces bactéries dégradent, en conditions anaérobies, leurs réserves en polyphosphates pour accumuler des substrats carbonés. Cette dégradation conduit à la libération de phosphates dans le milieu. Ensuite, en conditions aérobies (ou en présence d'accepteurs d'électrons), les réserves de carbone sont utilisées et les polyphosphates intracellulaires sont suraccumulés par rapport à l'état initial.

2.3. ASM3 (Gujer et al., 1999)

L'IWA a, plus récemment, proposé le modèle ASM3 (Gujer et al., 1999), qui prend en compte le stockage intracellulaire lors de la dégradation de la matière organique dans les processus à boues activées.

Le stockage correspond à la formation de composés intracellulaires (polymères). Ce phénomène a lieu, par exemple, dans les systèmes à boues activées et aussi lors d'expériences en réacteur lorsque la biomasse croît en conditions non stables (pulse de substrat rapidement biodégradable). Dans ces conditions, les micro-organismes se multiplient et stockent simultanément des polymères dans leur cellule en consommant des substrats externes (Van Niel et al., 1995; Majone et al., 1996; Van Aalst-van Leeuwen et al., 1997). Le rôle du stockage a été étudié dans les moindres détails en ce qui concerne les processus anaérobie / aérobie pour le traitement du phosphore par voies biologiques (Mino et al., 1987; Wentzel et al., 1991). En revanche, peu d'études ont été effectuées sur le stockage en conditions aérobies. Dans ASM3, le substrat rapidement biodégradable (S_S) est d'abord transformé en composés intracellulaires de stockage (X_{STO}) puis assimilé par la biomasse (Figure 2- 3). Le rendement global de croissance bactérienne est réparti entre un rendement de stockage (Y_{STO}) et un rendement de croissance (Y_H). La modélisation de la mortalité bactérienne est simplifiée par rapport à ASM1 : une respiration endogène est proposée pour remplacer le recyclage des sous-produits générés par la mortalité bactérienne d'ASM1. Les équations décrivant le stockage et l'assimilation de la matière organique sont décrites dans le Tableau 2- 3.

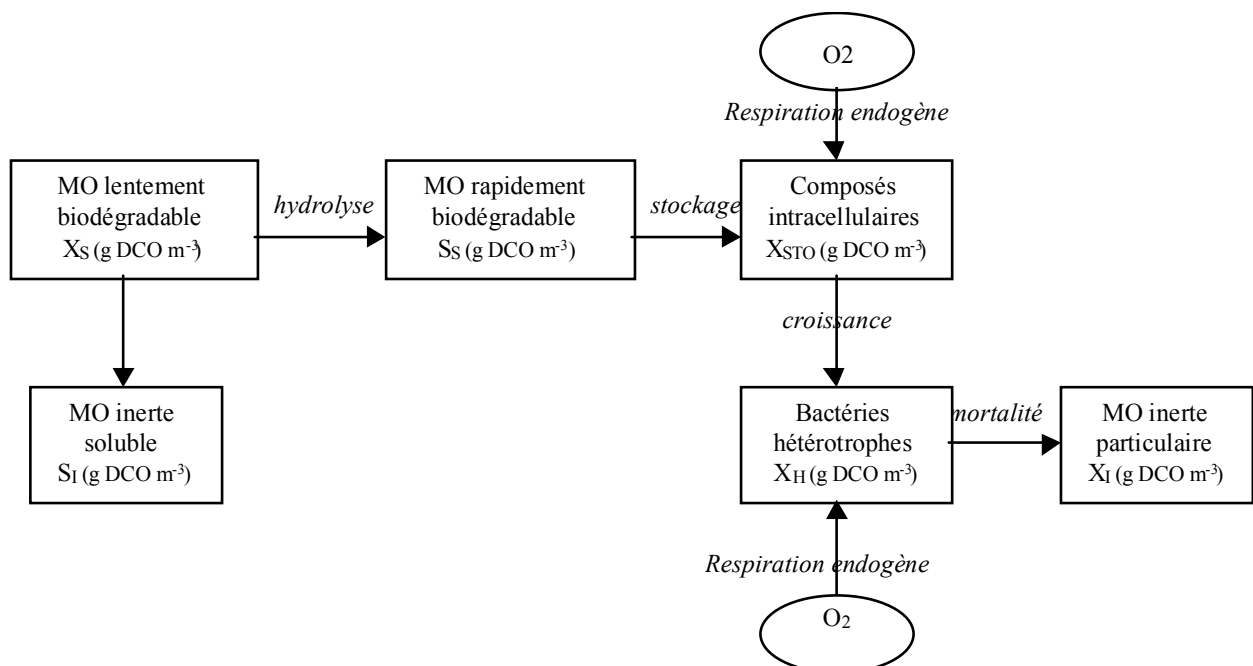


Figure 2- 3 Concept décrivant la biodégradation de la matière organique dans ASM3 (Gujer et al., 1999)

Composante i → Process j ↓	1 S _I (DCO)	2 S _S (DCO)	3 X _I (DCO)	4 X _S (DCO)	5 X _H (DCO)	6 X _{STO} (DCO)	7 S _O (O ₂)	Cinétique des process, ρ _j [ML ⁻³ T ⁻¹]
1 hydrolyse	f _{SI}	1- f _{SI}		-1				$k_H \cdot \frac{X_S / X_H}{K_X + X_S / X_H} \cdot X_H$
2 stockage aérobie		-1				Y _{STO}	1 - Y _{STO}	$k_{STO} \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S} \cdot X_H$
3 aérobie croissance					1	-1/Y _H	1/Y _H - 1	$\mu_H \cdot \frac{X_{STO} / X_H}{K_{STO} + X_{STO} / X_H} \cdot X_H$
4 respiration endog. aérobie			f _I		-1		(1- f _I)	$b_H \cdot X_H$
5 respiration aérobie of X _{STO}						-1	1	$b_{STO} \cdot X_{STO}$
taux conversion observé [ML ⁻³ T ⁻¹]	$r_i = \sum_j v_{ij} \rho_j$							
paramètres stoechiométriques: rendement de croissance hétérotrophe : Y _H rendement de stockage de S _S en X _{STO} : Y _{STO} Production de S _I lors de l'hydrolyse : f _{SI} Production de X _I lors de la respiration endogène : f _I	Matière organique inerte soluble [M(DCO)L ⁻³]	Substat rapidement dégradable [M(DCO)L ⁻³]	Matière organique particulaire inerte [M(DCO)L ⁻³]	Matière organique lentement dégradable [M(DCO)L ⁻³]	Biomasse hétérotrophe active [M(DCO)L ⁻³]	Produit de stockage intracellulaire [M(DCO)L ⁻³]	Oxygène [M(O ₂)L ⁻³]	paramètres cinétiques: Hydrolyse : k _H : taux d'hydrolyse K _X : constante de demi-saturation de l'hydrolyse organismes hétérotrophes : k _{STO} : taux de stockage K _S : constante de demi-saturation de S _S $\hat{\mu}_H$: taux de croissance K _{STO} : constante de demi-saturation de X _{STO} b _H : taux de respiration endogène aérobie de X _H b _{STO} : taux de respiration endogène aérobie sur X _{STO}

Tableau 2- 3 Cinétique et stœchiométrie de dégradation de la matière organique dans ASM 3 (d'après Gujer et al., 1999)

ASM3 décrit les mêmes principaux processus qu'ASM1 : consommation d'oxygène, production de biomasse, nitrification et dénitrification dans les systèmes à boues activées.

L'IWA a conçu ASM3 pour être la base de nombreux modèles. En effet, les modules pour l'élimination biologique du phosphore (comme ceux contenus dans ASM2 (Henze et al., 1995)), précipitation chimique, croissance des organismes filamenteux ou calcul du pH ne font pas partie d'ASM3 mais peuvent facilement être ajoutés.

La complexité d'ASM3 est comparable à celle d'ASM1. Le processus central qui était l'hydrolyse dans ASM1 devient le stockage de substrats organiques dans ASM3. La différenciation entre les substrats soluble et particulaire (S_s et X_s) reste arbitraire comme dans ASM1 et est principalement basée sur les taux de dégradation plus que sur une réelle séparation physique.

De la même façon que ASM2 (Henze et al., 1995), ASM3 tient compte de composés internes de stockage. La biomasse est donc modélisée avec une structure interne.

Quatre processus de mortalité sont comptabilisés (perte de X_H et X_{STO} en conditions aérobies et anoxies). Les cinétiques de croissance (en aérobie et anoxie) sont relatives au rapport X_{STO}/X_H . Le Tableau 2- 4 présente les valeurs de paramètres suggérées par le groupe de travail de l'IWA.

<i>paramètres du modèle</i>	symbole	unité	20°C
rendement de croissance hétérotrophe	Y_H	$\text{g DCO } X_H / (\text{g DCO } X_{STO})^{-1}$	0,63
rendement de stockage	Y_{STO}	$\text{g DCO } X_{STO} / (\text{g DCO } S_s)^{-1}$	0,85
production de S_i lors de l'hydrolyse	f_{SI}	$\text{g DCO } S_i / (\text{g DCO } X_s)^{-1}$	0
production de X_i lors de la resp. endogène	f_{XI}	$\text{g DCO } X_i / (\text{g DCO } X_H)^{-2}$	0,2
<i>paramètres cinétiques</i>			
taux de croissance spécifique max. hétérotrophe	μ_H	jour^{-1}	2
taux de mortalité hétérotrophe	b_H	jour^{-1}	0,2
constante de demi-saturation hétérotrophe	K_S	g DCO.m^{-3}	2
taux d'hydrolyse spécifique max.	k_H	$\text{g DCO } X_s / (\text{g DCO } X_H \cdot \text{jour})^{-1}$	3
constante de demi-saturation pour l'hydrolyse de X_s	K_X	$\text{g DCO } X_s / (\text{g DCO } X_H)^{-1}$	1
taux de stockage	k_{STO}	$\text{g DCO } S_s / (\text{g DCO } X_H)^{-1} \text{d}^{-1}$	5
constante de demi-saturation pour le stockage de X_{STO}	K_{STO}	$\text{g DCO } X_{STO} / (\text{g DCO } X_H)^{-1}$	1
taux de respiration aérobie à partir de X_{STO}	b_{STO}	jour^{-1}	0,2

Tableau 2- 4 Valeurs des paramètres d'ASM3 suggérées par le groupe de travail de l'IWA

(d'après Gujer et al., 1999)

3. Les modèles de rivière

Des modèles ont été mis en place, afin de mieux prévoir la dégradation bactérienne de la matière organique en milieu aquatique et ainsi de déterminer le pouvoir auto-épurateur du milieu récepteur. La plupart d'entre eux dérive du modèle de Steeter et Phelps (1925) dans lequel le taux de dégradation de la matière organique est supposé être proportionnel à la charge de matière organique. Avec ce modèle les variations de la teneur en oxygène dissous dans la rivière résultent de deux processus antagonistes : la dégradation de la matière

organique (simulée par une réaction d'ordre 1 et exprimée en terme de diminution de la DBO) et la réaération à l'interface air-eau. Cependant ce modèle ne prend pas en compte l'hétérogénéité de la matière organique, et le fait que toutes les composantes de la matière organique ne se dégradent pas avec la même cinétique. Il ne prend également pas explicitement en compte la biomasse bactérienne hétérotrophe responsable de la biodégradation.

3.1. QUAL2 et MIKE 21

L'Environmental Protection Agency (USA) a développé une série de modèles de qualité d'eau de rivière : QUAL1 (TWDB, 1971), QUAL2 (Roesner et al., 1981) et QUAL2E (Brown et Barnwell, 1987). Ce dernier modèle d'écosystème prend en compte la dégradation de la matière organique (en terme de DBO), les cycles de O, N et P, la croissance et la respiration algale, la réaération, la consommation d'oxygène des sédiments et le relargage d'azote et de phosphore des sédiments.

La disparition de la DBO ultime par biodégradation et décantation s'exprime de la façon suivante :

$$\frac{dDBO}{dt} = -K1.DBO - K3.DBO$$

Avec :

DBO : concentration en DBO ultime (g.m^{-3})

K1 : constante de biodégradation (d^{-1})

K3 : taux de perte de DBO par décantation (d^{-1})

Le défaut majeur de ce type d'équation est qu'elle ne prend en compte qu'une seule classe de DBO. De plus, la concentration en biomasse n'est pas prise en compte alors qu'elle joue un rôle important pour des processus tels que l'hydrolyse et la biodégradation.

En outre, QUAL2E est apparu inadapté pour des rivières présentant des variations temporelles d'un point de vue débit (Shanahan et al., 1998).

- lors d'événements pluvieux qui entraînent non seulement une augmentation de la charge de matière organique mais aussi une augmentation du débit. La variation de ces 2 paramètres induit une déviation très significative par rapport aux prévisions de QUAL2E.
- lors du déversement d'effluent de station d'épuration dans la rivière car cette dernière est soumise à des variations de débit journalières.

La formulation des autres modèles de qualité d'eau de rivière est très proche de celle de QUAL2E. C'est le cas de MIKE21 (Warren and Bach, 1992) :

$$\frac{dDBO_d}{dt} = -K_{d3} \cdot DBO_d$$

Avec DBO_d : DBO dissoute (g.m^{-3})

K_{d3} : constante de dégradation de la matière organique dissoute (d^{-1})

MIKE21 apporte cependant une amélioration notable en subdivisant la matière organique en fraction dissoute, particulaire et sédiment. Il devient ainsi possible de modéliser la demande en oxygène des sédiments et le devenir de la matière organique dans les sédiments (sédimentation, dégradation et ressuspension).

3.2. Le modèle RIVE

Des modèles de qualité de rivière ont été développés au cours des quinze dernières années en couplant des modèles hydrodynamiques et de transport à un modèle de fonctionnement écologique, appelé modèle RIVE (Garnier et al., 1995 ; Even et al., 1998). Le modèle RIVE décrit les cinétiques des réactions biogéochimiques importantes dans un écosystème fluvial. Il contient une formulation de la dégradation de la matière organique avec la représentation des biomasses bactériennes : le modèle HSB (Tableau 2- 5 et Figure 2- 4) (Servais 1986, 1989, Billen et Servais, 1989, Servais et Billen, 1993).

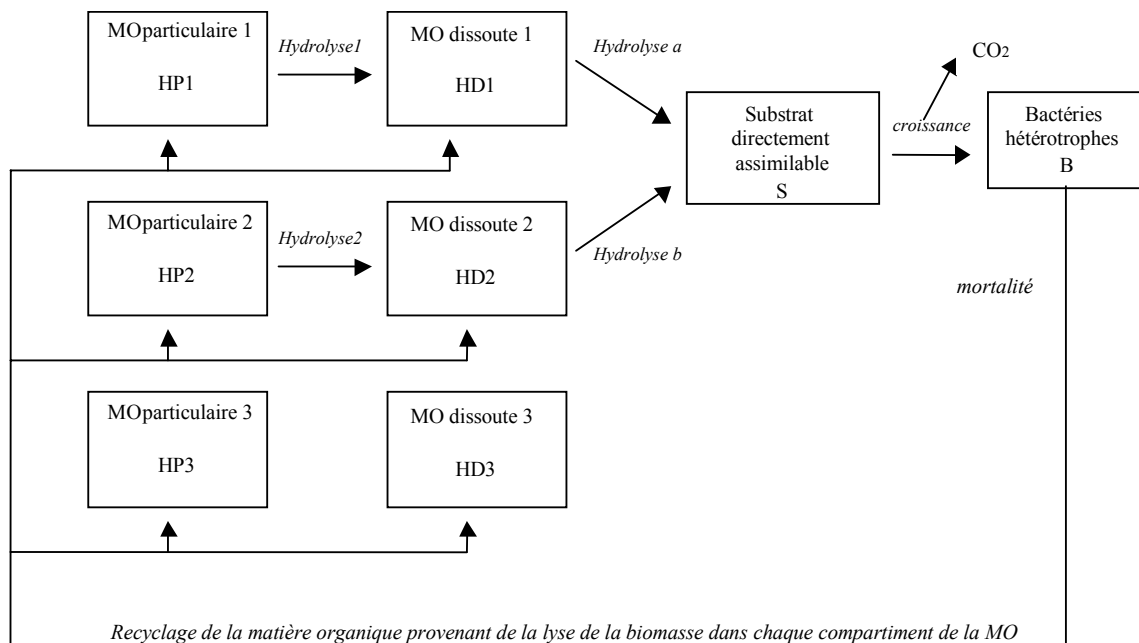


Figure 2- 4 Représentation schématique de la description de la biodégradation de la matière organique dans le modèle HSB (Billen et Servais, 1989)

Composante i →	1 HP _i (COP)	2 HD _i (COD)	3 S (COD)	4 B (COP)	cinétiques des processus, ρ _j [ML ⁻³ T ⁻¹]
Processus j ↓					
1 Hydrolyse HP _i → HD _i	-1	1			$k_{i,b}.HP_i$
2 Hydrolyse HD _i → S		-1	1		$e_{j,max} \frac{HD_j}{k_{j,h} + HD_j} B$
3 croissance aérobie			-1	1	$Y.b_{max} \frac{S}{K_S + S} B$
4 mortalité				-1	$k_{db}.B$
Taux de conversion observé [ML ⁻³ T ⁻¹]	$r_i = \sum_j v_{ij} \rho_j$				
paramètres stoechiométriques:					paramètres cinétiques :
fractions recyclés en HP _i après mortalité bactérienne : ε _{pi} (i=1,2 ou 3)	Matière organique particulaire (i= 1,2 et 3) [M(COP)L ⁻³]	Matière organique dissoute (i= 1,2 et 3) HD ₃ : fraction inerte [M(COD)L ⁻³]	Substrat rapidement dégradable [M(COD)L ⁻³]	Biomasse hétérotrophe active [M(COP)L ⁻³]	croissance et mortalité hétérotrophe : Y : rendement de croissance b _{max} : consommation maximale K _S : constante de demi-saturatin pour S K _{db} : taux de mortalité Hydrolyse : k _{i,b} : taux d'hydrolyse de HP _i e _{j,max} : taux d'hydrolyse max de HD _i k _{j,h} : constante de demi-saturation pour l'hydrolyse de HD _i
fractions recyclés en HD _i après mortalité bactérienne: ε _{di} (i=1,2 ou 3)					

Tableau 2- 5 Cinétique et stoechiométrie de dégradation du carbone dans le modèle HSB (d'après Billen et Servais, 1989)

HSB a un jeu de paramètres propres, c'est un modèle déterministe (voir Tableau 2- 6).

processus	Paramètres cinétiques	Bactéries	Unités
Prod. de HP_i par lyse	ϵ_{p1}	0.2	-
	ϵ_{p2}	0.2	-
	ϵ_{p3}	0.1	-
Hydrolyse exoenzym. HP_i	$k_{1,b}$	0.005	h^{-1}
	$k_{2,b}$	0.00025	h^{-1}
Prod. de HP_i par lyse	ϵ_{d1}	0.2	-
	ϵ_{d2}	0.2	-
	ϵ_{d3}	0.1	-
Hydrolyse exoenzym. HD_i	$e_{1,max}$	0.75	h^{-1}
	$e_{2,max}$	0.25	h^{-1}
	$k_{1,h}$	0.25	mgC/l
	$k_{2,h}$	2.5	mgC/l
Prélèvement de S	b_{max}	0.6	h^{-1}
	K_S	0.1	mgC/l
Croissance bact.	Y	0.25	-
Mortalité bact.	K_{db}	0.05	h^{-1}

Tableau 2- 6 Valeur des paramètres utilisés dans HSB (Servais, 1986)

La matière organique, quelle que soit son origine (lessivage des sols, rejets domestiques, industriels ou agricoles, production primaire) est principalement apportée au système aquatique sous formes de macromolécules qui ne peuvent être utilisables pour la croissance bactérienne qu'après une hydrolyse exoenzymatique par les exoenzymes bactériens. L'hydrolyse exoenzymatique d'une partie de la matière organique produit des substrats simples qui peuvent être incorporés par les bactéries hétérotrophes ; ils serviront soit à la production de biomasse (anabolisme) soit à la respiration (catabolisme). De même que les modèles de l'IWA, le modèle HSB simule la croissance bactérienne, bien que la production de biomasse bactérienne ne soit pas un processus a priori perçu comme de tout premier plan en rivière. Diverses études ont mis en évidence l'intérêt qu'il y avait à introduire explicitement la biomasse hétérotrophe pour simuler la qualité des eaux de rivière en régime quasi-permanent ou fortement variable (Billen et Servais, 1989).

Une des particularités de ce modèle est d'utiliser des unités pour la matière organique

différentes des unités classiquement utilisées que sont la demande chimique en oxygène (DCO) et la demande biologique en oxygène (DBO). Dans le modèle HSB, la matière organique est exprimée en unité de carbone (carbone organique dissous et particulaire, plutôt que d'oxygène consommé pour son oxydation).

Dans ce modèle, la matière organique peut être sous les formes suivantes :

- Matière organique particulaire (notée HP) : la transformation de la matière organique particulaire en matière organique dissoute est exprimée sous forme de cinétiques du premier ordre. Dans le milieu naturel, toutes les classes de la matière organique particulaire (HP1, HP2 et HP3) sont soumises à la sédimentation et peuvent par lyse donner de la matière organique dissoute. En plus des apports allochtones, introduits ponctuellement, il existe un terme de production autochtone de matière organique particulaire correspondant à la mortalité des bactéries, du phytoplancton et du zooplancton.
- Matière organique dissoute polymérique non directement assimilable (notée HD). Trois types de polymères sont pris en compte dans le modèle HSB : HD1 représente le pool des composés rapidement hydrolysable, HD2 celui des composés lentement hydrolysables et HD3 celui des composés réfractaires à l'hydrolyse.
- Monomère (noté S) ou substrat direct : ce pool est alimenté par l'hydrolyse de la matière organique dissoute polymérique et l'excrétion algale (dans le milieu naturel). L'hydrolyse de la matière organique polymérique obéit à une cinétique de type Michaëlis-Menten. Les substrats directs constituent la fraction de la matière organique dissoute directement assimilable par les bactéries. Le terme de prélèvement par les bactéries obéit à une cinétique de type Michaëlis-Menten (Billen et Servais, 1989).
- Bactéries hétérotrophes (notées B) : la biomasse bactérienne résulte d'un terme de croissance (proportionnel au prélèvement de substrats directs), de mortalité (lyse et broutage) et de sédimentation (dans le milieu naturel). Des différences de taille et de caractéristiques physiologiques (taux de croissance, taux de mortalité) entre les bactéries autochtones (majorité de petites bactéries $<1\mu\text{m}$) et celles principalement issues de stations d'épuration (majorité de grosses bactéries $>1\mu\text{m}$) ont été mises en évidence dans la Seine (Servais et Garnier, 1990; Garnier et al., 1992a,b). Lors de certaines utilisations du modèle HSB, ces deux populations bactériennes sont différenciées et toutes deux

explicitement prises en compte. Un rendement de croissance moyen des bactéries de 0.33 a été déterminé par Barrillier et Garnier (1993). Les rendements de croissance déterminés dans d'autres études sur le milieu récepteur fournissent une fourchette de valeurs se situant entre 0.1 et 0.5 (Billen et Servais, 1989, Lancelot et Billen, 1985, Cole et Pace, 1995). En pratique, le rendement de croissance pour les applications du modèle HSB à la simulation de la biodégradation en rivière a été fixé à 0.25 (Garnier et al., 1995).

Production de S (hydrolyse exoenzymatique)	A partir de HD1	0.75*B
	A partir de HD2	0.25*B
Consommation de S (croissance de la biomasse)	Par les petites bactéries	0.04*B
	Par les grosses bactéries	0.3*B

Tableau 2- 7 Cinétique de production et de consommation de S en conditions saturantes en S, HD1 et HD2 avec le modèle HSB. Les petites bactéries correspondent aux bactéries autochtones et les grosses bactéries aux bactéries issues des STEPs

En conditions saturantes en S, HD1 et HD2, l'hydrolyse exoenzymatique représente l'étape limitante de l'utilisation de la matière organique par les bactéries dans le cas où l'hydrolyse se fait sur HD2 et que le S ainsi produit est utilisé pour la croissance des grosses bactéries (voir Tableau 2- 7). Dans les autres cas, c'est la consommation de S qui est l'étape limitante.

En plus du modèle HSB décrivant la biodégradation, le modèle RIVE prend aussi en compte la dynamique du phytoplancton (modèle AQUAPHY, Lancelot *et al.*, 1991), la cinétique de croissance et de broutage du zooplancton (modèle ZOLA, Garnier et Billen, 1993) et le recyclage benthique des nutriments (modèle VENICE, Billen *et al.*, 1989). L'ensemble des paramètres impliqués dans les équations décrivant ces processus ont été déterminés expérimentalement (sur le terrain ou en laboratoire). La description des processus biologiques (modèle RIVE) a été couplée avec diverses descriptions de l'hydrodynamique des systèmes fluviaux pour donner le modèle SENEQUE (description de l'ensemble du réseau hydrographique de la Seine - Billen et al., 1995) ou PROSE (décrivant l'axe pluvial de la Seine entre l'amont de Paris et l'estuaire - Even et Poulin, 1993).

La description de la biodégradation de la matière organique par le modèle HSB a, par ailleurs, été utilisée dans d'autres modèles décrivant le fonctionnement d'écosystèmes naturels comme

la zone côtière de la Mer du Nord (Lancelot et al., 1997), la Mer Noire (Van Eeckhout et al., 1997), l'océan Antarctique (Lancelot et al., 2000), la Meuse (Servais, 1989). Le modèle HSB a également servi de base à un modèle décrivant l'élimination de la matière organique biodégradable dans des filtres biologiques utilisés pour la production d'eau potable (Billen et al., 1992) et à un modèle simulant la croissance des bactéries dans les réseaux de distribution d'eau potable (Servais et al., 1995 b; Laurent et al., 1997).

4. L'hydrolyse exoenzymatique

Dans cette partie, nous étudions si les mesures d'oxygène sont des données suffisantes nous permettant de trancher et de dire quel est le meilleur formalisme (celui de HSB ou de ASM) pour décrire l'hydrolyse exoenzymatique.

- Dans les divers modèles décrits précédemment, plusieurs types d'approche sont utilisés pour simuler l'hydrolyse. Nous les avons comparés, dans ce qui suit, pour ASM et HSB.

Contrairement à HSB, les équations d'ASM prennent en compte le phénomène d'adsorption de la matière organique particulaire sur la biomasse bactérienne. Dans ASM, l'hydrolyse est considérée comme un processus limité par la surface réactionnelle et modélisé par l'équation suivante :

$$dX_S / dt = - k_H \cdot \frac{X_S / X_H}{K_X + X_S / X_H} \cdot X_H$$

Spérandio (1998) a apporté quelques modifications à ASM1 en simulant explicitement l'adsorption avec un modèle de type Langmuir. Ce modèle permet une amélioration des simulations des cinétiques respirométriques à la fois pour des conditions avec des rapports substrats/ biomasse (S_0/X_0) faibles et forts.

D'après Langmuir, l'adsorption d'une molécule suit le modèle suivant :

$$MS = K \cdot S_{\text{libre}} \cdot M$$

De plus, $MS + S_{\text{libre}} = S_{\text{TOT}}$

Avec MS : molécule fixé sur un site d'adsorption

S_{libre} : site d'adsorption libre

S_{TOT} : nombre de site total disponible

M : molécules non adsorbées

K : constante de Langmuir

En combinant les 2 dernières équations, on obtient la relation suivante :

$$MS = \frac{K \cdot S_{TOT} \cdot M}{1 + K \cdot M}$$

$$\text{Soit } \frac{MS}{S_{TOT}} = \frac{M}{1/K + M} \quad (1)$$

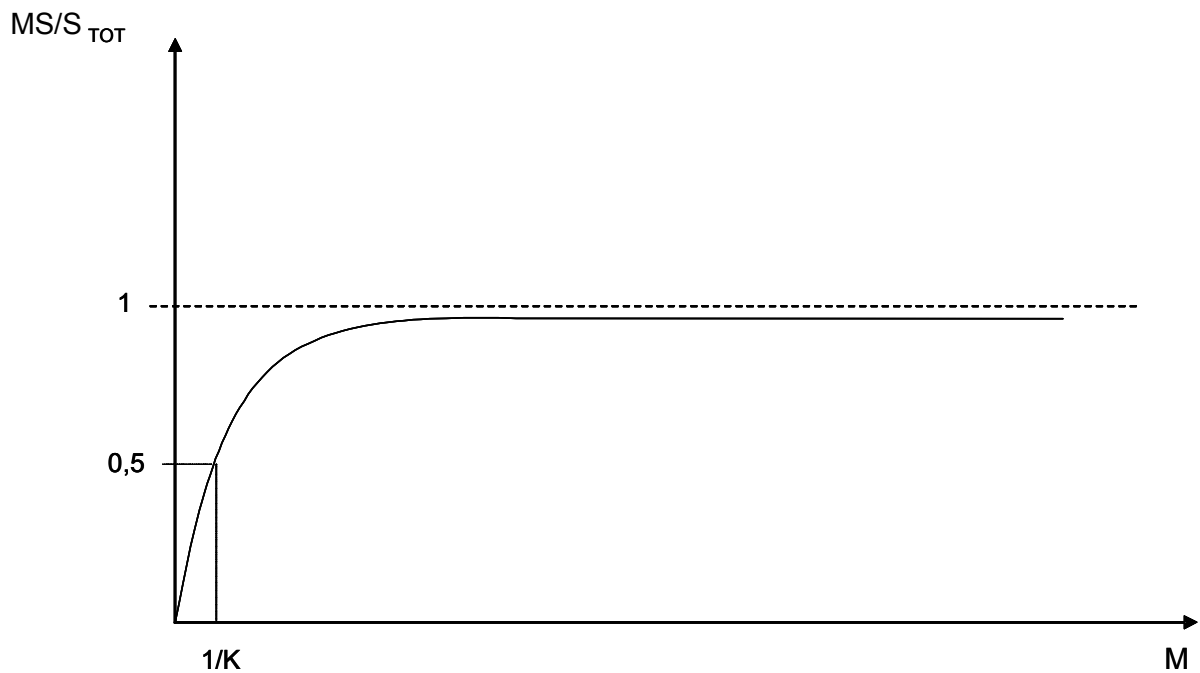


Figure 2- 5 variation de MS/S_{TOT} en fonction de M

- Cas 1 : $M \gg 1/K$ alors $\frac{MS}{S_{TOT}} = 1$, dans ce cas tous les sites S sont occupés par une molécule M
- Cas 2 : $M \ll 1/K$ alors $\frac{MS}{S_{TOT}} = K \cdot M$, le nombre de molécules fixées sur un site MS augmente avec la concentration en molécule M

Soient α défini tel que $S_{TOT} = \alpha \cdot X_H$ (avec X_H : bactéries hétérotrophes), X_{SL} la MO hydrolysable libre, X_{SF} la MO hydrolysable fixée sur un site et X_S la MO hydrolysable totale, l'équation (1) devient :

$$\frac{X_{SF}}{\alpha \cdot X_H} = \frac{X_{SL}}{1/K + X_{SL}}$$

Lorsque nous injectons cette relation dans l'équation d'hydrolyse de ASM, on obtient :

$$\frac{dX_{SF}}{dt} = -k_H \cdot \frac{\frac{X_{SF}}{\alpha \cdot X_H}}{K_X + \frac{X_{SF}}{\alpha \cdot X_H}} \cdot X_H$$

- cas 1 ($M \gg 1/K$) i.e. $\frac{X_{SF}}{\alpha \cdot X_H} = 1$ soit $\frac{dX_{SF}}{dt} = -k'_H \cdot X_H$

La réaction d'hydrolyse est proportionnelle à la concentration en bactéries X_H

- cas 2 ($M \ll 1/K$) i.e. $\frac{X_{SF}}{\alpha \cdot X_H} = K \cdot X_S$ soit $\frac{dX_{SF}}{dt} = -k_H \cdot \frac{K \cdot X_S}{K_X + K \cdot X_S} X_H$ ou

$$\frac{dX_{SF}}{dt} = -k_H \cdot \frac{X_S}{K'_X + X_S} X_H \text{ avec } K'_X = \frac{K_X}{K}$$

$$\text{Si } K'_X \ll X_S, \frac{dX_{SF}}{dt} = -k_H \cdot X_H$$

La réaction d'hydrolyse est proportionnelle à la concentration en bactéries X_H

$$\text{Si } K'_X \gg X_S, \frac{dX_{SF}}{dt} = -k''_H \cdot X_S \cdot X_H$$

La réaction d'hydrolyse est proportionnelle à la MO hydrolysable*concentration en bactéries i.e. $X_H \cdot X_S$

Pour le modèle HSB, l'hydrolyse est traduite par l'équation suivante :

$$\frac{dHD_j}{dt} = -e_{j,\max} \frac{HD_j}{k_{j,h} + HD_j} B$$

- $HD_j \gg k_{j,h}$ l'équation devient : $\frac{dHD_j}{dt} = -e_{j,\max} \cdot B$

La réaction d'hydrolyse est proportionnelle à la concentration en bactéries B

- $HD_j \ll k_{j,h}$ l'équation devient : $\frac{dHD_j}{dt} = -e'_{j,\max} \cdot HD_j \cdot B$

La réaction d'hydrolyse est proportionnelle à la MO hydrolysable*concentration en bactéries $HD_j \cdot B$

Est ce que, dans l'équation de l'hydrolyse précédente, le fait de remplacer X_S/X_H par X_S a une répercussion sur la consommation d'oxygène ? La réponse à cette question est non car :

- Pour les X_S faibles, que l'équation soit en X_S ou X_S/X_H la cinétique est toujours d'ordre 1 par rapport à X_S .
- Pour les X_S forts, dans les 2 cas la réaction est proportionnelle à X_H .

Donc ce ne sont pas des mesures d'oxygène (méthodes couramment utilisées et décrites dans le chapitre 3 suivant) qui nous permettront de choisir laquelle des 2 équations il est préférable d'utiliser pour décrire la dégradation de la matière organique. Dans la suite de ce travail, nous conservons l'équation rendant compte de la limitation de l'hydrolyse par le nombre de sites disponibles à la surface de la biomasse bactérienne.

5. Conclusions

La disponibilité des mesures de pollution est souvent citée comme l'obstacle majeur de la mise au point, du perfectionnement et de l'utilisation des modèles de simulation de la qualité, particulièrement dans le cas de MOUSETRAP. En effet, en l'état actuel de la modélisation, le module de qualité comporte un certain nombre de paramètres qui peuvent être difficilement estimés. Les modèles intègrent souvent un grand nombre de paramètres et de variables. Certains paramètres pourront être évalués à partir des données expérimentales d'autres ne sont pas sensibles et ne peuvent être évalués correctement. Il arrive que certains paramètres soient fortement corrélés et donc non évaluables individuellement. Un autre problème peut se poser, dans le cas où le modèle doit être calé, lorsque le jeu de données utilisé pour les estimations des paramètres ne couvre pas bien les situations environnementales d'intérêt. Ce cas de figure est bien évidemment évité dans le cas de modèle déterministe tel que HSB pour lequel les paramètres sont prédéfinis.

Chapitre 3 : PROBLEMATIQUE / OBJECTIFS

Après une partie descriptive (chapitre 2) des modèles utilisés dans les 3 sous-systèmes (réseau d'assainissement, STEP, milieu naturel récepteur), ce chapitre rentre dans l'analyse et la critique de ces modèles dans le but de converger vers une méthodologie permettant le fractionnement de la matière organique en classes de biodégradabilité et applicable sur le continuum.

1. Variables utilisées dans les modèles de biodégradation pour représenter la matière organique

Le principal intérêt de modèles tels que QUAL2E ou MIKE21 est de fournir des ordres de grandeur des vitesses de dégradation. Ils ont cependant le désavantage de reposer sur une vision simplifiée des phénomènes impliqués. En effet, la dégradation de la matière organique est traitée comme s'il s'agissait d'une propriété chimique de celle-ci : l'action des micro-organismes organotrophes responsables du processus n'est pas prise en compte explicitement car la population bactérienne n'est pas une variable d'état du modèle.

Dans ces modèles l'unité utilisée pour représenter la matière organique est la Demande Biologique en Oxygène (DBO). Cette mesure, effectuée sur 5 jours, est mal adaptée au contexte des stations d'épuration car le temps de séjour d'une eau usée dans une station est très largement inférieur à cette durée.

En rivière, l'utilisation de la DBO comme variable d'état implique que les bilans de masse ne peuvent être bouclés. En effet, la DBO ne prend pas en compte toute la matière organique biodégradable car une durée de cinq jours est insuffisante pour une biodégradation complète de la matière organique. De plus, la DBO est mal évaluée car cette mesure, quand elle est utilisée sur des échantillons du milieu naturel, prend aussi en compte la dégradation durant les cinq jours d'incubation de la biomasse phytoplanctonique qui meurt durant l'incubation à l'obscurité mais était vivante lors du prélèvement. Nous surestimons ainsi la quantité de matière organique biodégradable disponible pour les bactéries. Servais et al. (1998) ont en effet montré que, dans des milieux naturels eutrophes, la consommation d'oxygène durant une mesure de DBO pouvait correspondre quasi uniquement à la demande en oxygène liée à la dégradation du matériel phytoplanctonique.

C'est pourquoi, la DBO semble une unité très mal adaptée dans le contexte de modèles de gestion intégrée : aujourd'hui, la DBO a essentiellement un rôle normatif et réglementaire.

Le modèle de station d'épuration de l'IWA et le modèle HSB sont basés sur le même concept, c'est à dire la simulation de la croissance de la biomasse comme moteur du processus de dégradation de la matière organique.

L'IWA mesure des Demandes Chimiques en Oxygène (DCO). La DCO correspond à la consommation globale à chaud de l'oxygène du dichromate de potassium et est représentative de la majeure partie des composés organiques ainsi que des sels minéraux oxydables. Les utilisateurs du modèle HSB utilisent des mesures de Carbone Organique Dissous et Particulaire (COD et COP) qui représentent la teneur en carbone lié à la matière organique et repose sur une mesure du CO₂ produit après oxydation complète de la matière organique.

L'idée d'utiliser le carbone comme variable pour le contrôle du fonctionnement des stations d'épuration n'est pas nouvelle (Thérien et Perdrieux, 1980), et elle est rendue de plus en plus plausible d'un point de vue opérationnel par l'apparition au cours des dernières années d'analyseurs de carbone total automatisés et fiables. L'utilisation des méthodes basées sur la mesure du carbone permet d'éviter certaines critiques qui peuvent être faites dans le cas de la DCO (prise en compte par la mesure de l'oxydation des substances minérales réduites). De plus, les techniques analytiques qui permettent d'accéder au carbone organique dissous et particulaire sont fiables, avec des limites de détection très basses. Cependant lorsque l'on veut calculer des quantités d'oxygène consommées par la biodégradation, le problème est que la stoechiométrie C / O est variable ; le rapport C / O dépend en effet de l'état d'oxydation de la matière organique biodégradée et varie donc selon la composition en matière organique de l'échantillon analysé.

2. Techniques de fractionnement de la matière organique en classe de biodégradabilité

2.1. Les techniques batch

Dans le cadre du développement du modèle HSB, deux techniques ont été proposées pour estimer la fraction biodégradable de la matière organique. La première vise à estimer la fraction biodégradable du COD (CODB) d'un échantillon préalablement filtré. La seconde vise à estimer dans un même échantillon non filtré les fractions biodégradables du COD et du COP, respectivement nommée CODB et COPB.

La première procédure est basée sur de la décroissance du COD dans un échantillon stérilisé par filtration sur membrane de porosité 0.2 µm, puis réensemencé par un inoculum de

bactéries indigènes en suspension (5 à 10 % en volume d'eau brute filtrée sur une membrane de porosité 2 μm) et ensuite incubé durant un mois à l'obscurité à 20 °C (Servais et al., 1987, 1989). Le CODB est estimé par différence entre le COD en début d'incubation et le COD en fin d'incubation. Cette méthode a été normalisée au niveau français (Norme AFNOR T90-318).

La seconde procédure (Servais et al., 1995a) consiste en une dégradation biologique d'un échantillon d'eau brute, sans aucun ajout de biomasse, que l'échantillon provienne d'un égout, d'une station d'épuration ou du milieu naturel récepteur. L'incubation dure 45 jours à 20 °C et à l'obscurité. Les fractions biodégradables du carbone organique dissous et du carbone organique particulaire sont définies par différence entre les teneurs finales et les teneurs initiales en carbone de l'échantillon. Cette technique fait abstraction de certains phénomènes de transferts physiques et biologiques entre les phases dissoute et particulaire, qui ont été jugés négligeables dans les conditions expérimentales utilisées. En effet, Servais et al. (1995a) ont montré que le CODB estimé par les deux procédures appliquées à divers types d'échantillons était identique, montrant par là une absence d'influence significative de la présence ou de l'absence de la fraction particulaire durant l'incubation. La mesure du carbone organique dissous et particulaire biodégradable (COTB et COPB) proposée par Servais et al. (1995a) a été appliquée avec succès sur des eaux usées (Seidl et al., 1998; Servais et al., 1999).

Des tentatives d'adaptation des protocoles de Servais ont, par ailleurs, été faites dans le domaine de l'épuration (Kahn et al. 1998a, 1998b) en ajoutant plus ou moins de biomasse de diverses origines et en augmentant la température d'incubation pour accélérer la procédure. Ces tentatives restent aujourd'hui peu nombreuses.

Lorsque la première procédure décrite ci-dessus est appliquée, le modèle HSB peut être utilisé pour simuler la croissance de la biomasse bactérienne dans ce type d'essai. Dans le modèle HSB, le carbone organique dissous biodégradable (CODB) est divisé en trois classes de composés en fonction de ces propriétés de dégradabilité. Les trois classes sont les suivantes : les substrats directement assimilables par les bactéries (S), les composés polymériques (HD1) qui peuvent être rapidement hydrolysés par les exoenzymes bactériennes en substrats (S) et les composés polymériques (HD2) qui sont lentement hydrolysables par les bactéries. Connaissant le CODB, qui est estimé expérimentalement, la meilleure simulation (estimée par la méthode des moindres carrés) des données de biomasse bactérienne durant l'incubation par le modèle HSB permet de fractionner le CODB de l'eau testée parmi les trois classes décrites

précédemment. Un exemple de données de biomasse bactérienne et de simulation avec le modèle HSB est représenté sur la Figure 3- 1. Dans ces essais la biomasse hétérotrophe doit être mesurée par microscopie en épifluorescence après marquage au DAPI (Porter and Feig, 1980). Lorsque la seconde procédure est utilisée, comme la biomasse au départ de l'expérience batch est beaucoup plus importante, la croissance de la biomasse est beaucoup plus limitée et sa simulation ne permet pas de caractériser l'ensemble des classes de composés de biodégradabilité différente du CODB et du COPB.

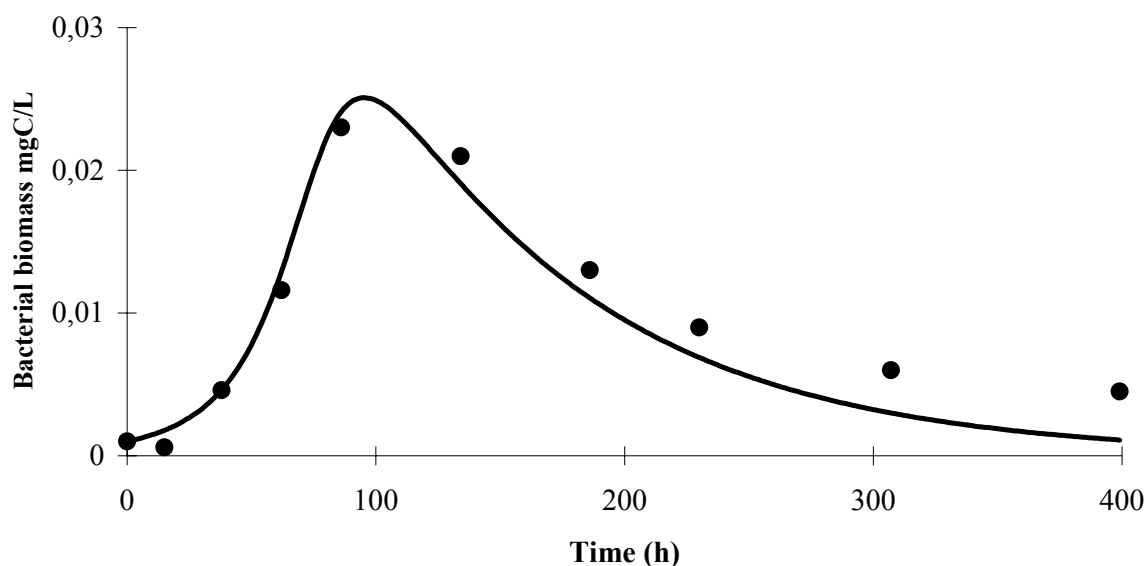


Figure 3- 1: Exemple d'évolution de la biomasse bactérienne lors d'un essai (eau potable ; échantillons provenant de l'usine de traitement de Méry-sur-Oise)

(●) données expérimentales ; (-) calcul du modèle HSB. Avec $HD1=0.11 \text{ mg C/L}$; $HD2=0.06 \text{ mg C/L}$ et $S=0.02 \text{ mgC/L}$ (Laurent et al., 2001)

2.2. Les essais basés sur la respirométrie

Les modèles de station d'épuration, tels que les modèles ASM, prennent en compte diverses classes de biodégradabilité de la matière organique. Plusieurs techniques de caractérisation des fractions dégradables sont utilisées. Dans ASM1, nous distinguons une fraction rapidement dégradable (S_S) et une fraction lentement dégradable (X_S). Diverses méthodes ont été proposées pour quantifier la fraction rapidement dégradable et la fraction lentement dégradable : la première développée par Ekama et Marais (1979) s'est montrée efficace mais demande beaucoup de temps et nécessite la mise en place d'une station d'épuration pilote complexe. Le principe est la mesure du taux de consommation d'oxygène (Oxygen Uptake Rate - OUR en $\text{mgO}_2/\text{L.h}$) dans un procédé à boue activée alimenté quotidiennement sous forme de pulses carrés d'eaux usées : 12 heures d'alimentation, 12 heures sans alimentation

(Figure 3- 2). Une fois la phase d'alimentation terminée, l'OUR décroît rapidement puis reste à peu près constant avant de décroître à un taux correspondant à la respiration endogène (Figure 3- 3).

Lors de cette expérience en réacteur, la nitrification a été éliminée en ajoutant un inhibiteur de nitrification (thio-urée). Par voie de conséquence, le fort taux initial de consommation d'oxygène (Figure 3- 3) est uniquement dû à la dégradation de la matière organique rapidement biodégradable. Cette fraction est quantifiée en supposant connu le rendement de croissance de la biomasse bactérienne ($Y_H = \text{oxygène consommée} / \text{substrat utilisé}$) et en intégrant le profil OUR en fonction du temps pour calculer la quantité d'oxygène utilisée lors de sa dégradation.

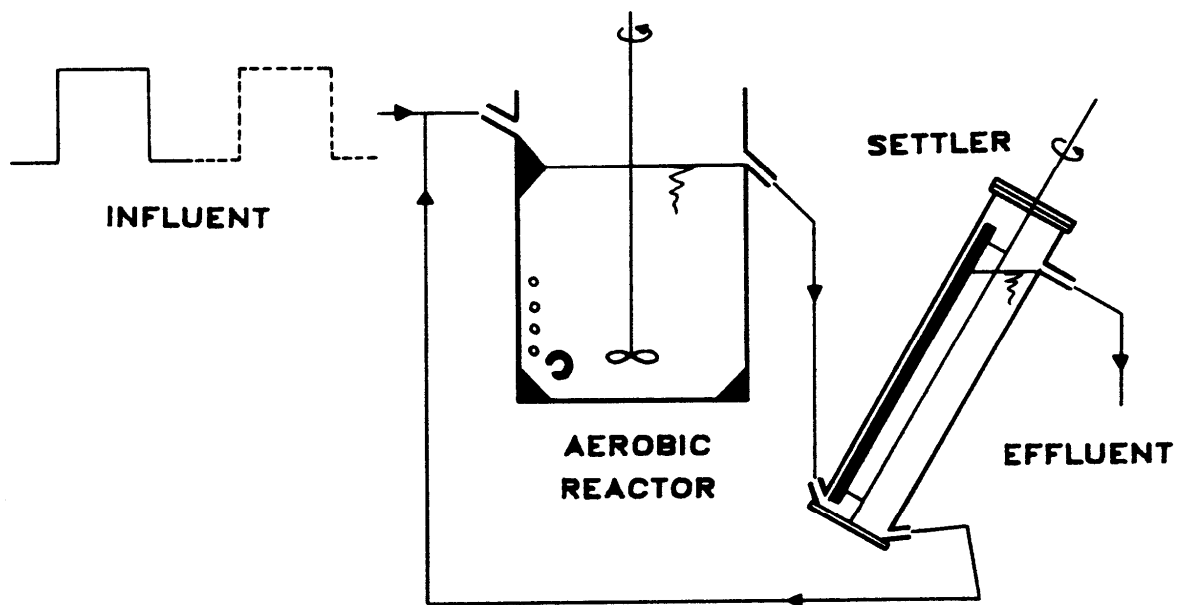


Figure 3- 2 : Schéma du réacteur aérobique utilisé pour caractériser la matière organique rapidement biodégradable (d'après Ekama et al., 1986)

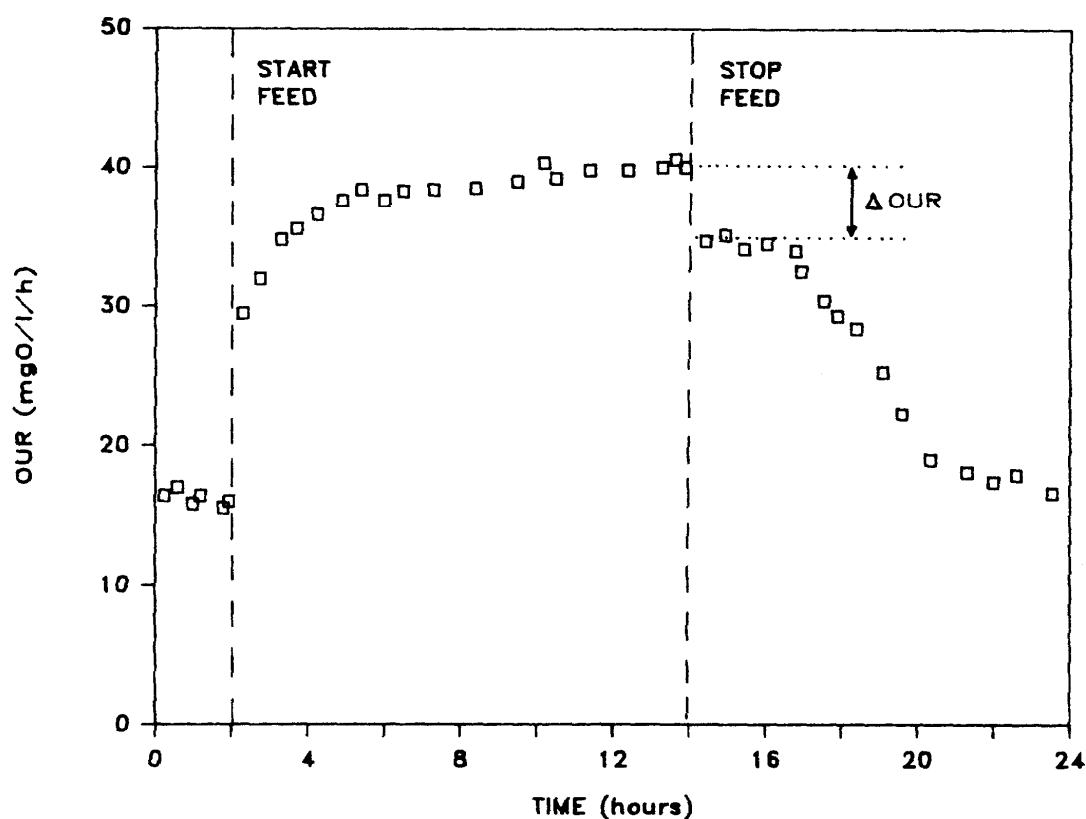


Figure 3- 3 : OUR obtenu lors d'un ajout cyclique (12 heures avec ajout / 12 heures sans ajout) d'eaux usées (d'après Ekama et al., 1986)

Ekama et al. (1986) propose une deuxième méthode appelée « aerobic batch test method ». Dans ce test, un volume d'eaux usées de DCO_{totale} connue est mélangée à un volume de boue activée de concentration en matières volatiles en suspension connue dans un réacteur batch sans échange avec l'atmosphère et agité. Immédiatement après le mélange, l'OUR est mesuré toutes les 5 à 10 minutes pendant 4 à 5 heures. L'OUR reste constant en début de test pendant 1 à 3 heures. Cette phase est due à la dégradation de la fraction rapidement dégradable qui se fait à un taux maximum. Puis l'OUR décroît rapidement pour se stabiliser à un second plateau d'OUR qui caractérise l'hydrolyse de la matière organique particulaire (Figure 3- 4).

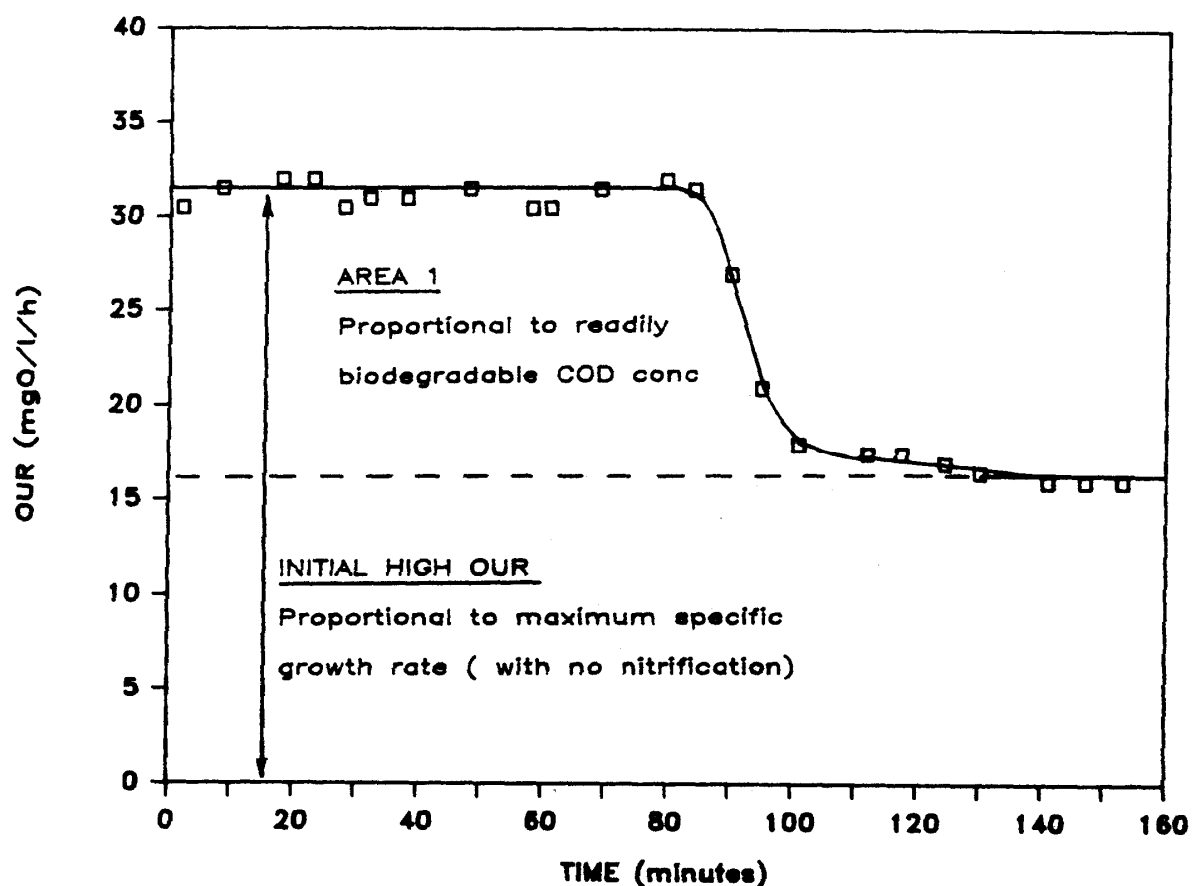


Figure 3- 4 : Exemple d'OUR lors d'un test dans un réacteur aérobie pour la mesure de matière organique rapidement biodégradable (d'après Ekama et al., 1986)

Xu et Hasselblad (1996) propose une nouvelle méthode plus simple à mettre en place appelée « single OUR method ». Pour déterminer la fraction de la DCO rapidement biodégradable d'une eau usée, Xu et Hasselblad (1996) propose de mélanger une boue activée (préalablement aérée de manière à ce que l'OUR de la boue soit constant) à de l'eau usée dans une bouteille à DBO. L'OUR est enregistré toutes les 15 secondes. La consommation en oxygène est mesurée comme montré sur la Figure 3- 5 tirée de Xu et Hasselblad (1996). Une courbe de calibration (Figure 3- 6) est obtenue en remplaçant l'eau usée par de l'acétate (DCO connue). Ainsi en reportant sur cette courbe la quantité d'oxygène consommée lors de l'expérience en réacteur avec l'eau usée, nous obtenons la DCO rapidement biodégradable de cette eau usée.

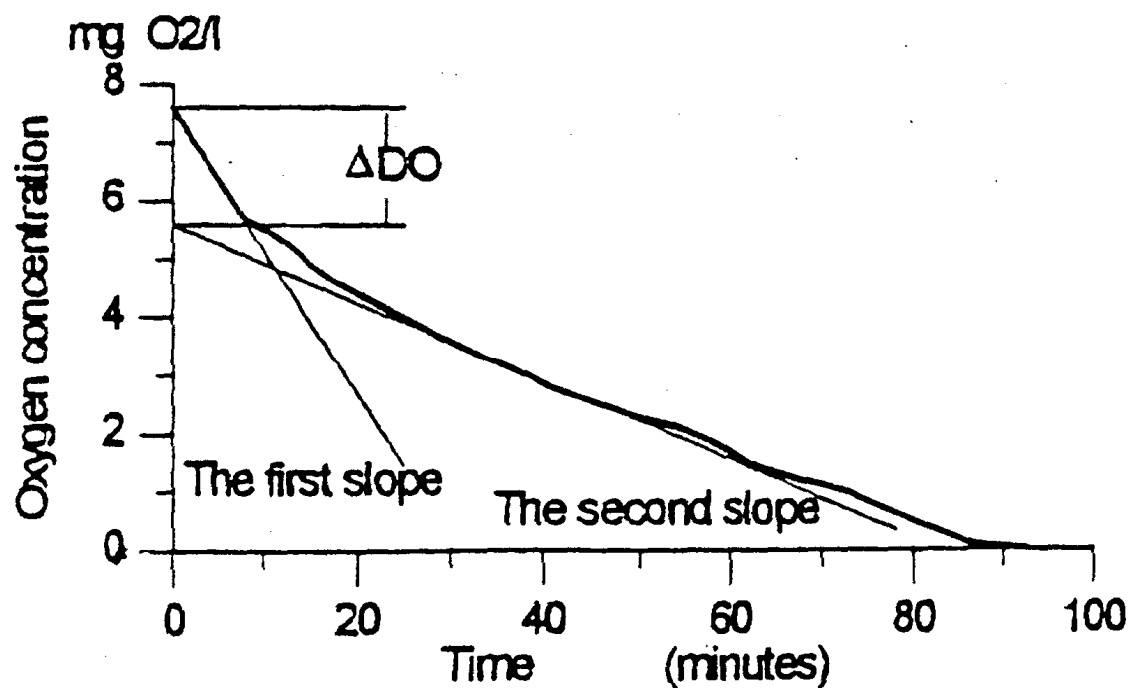


Figure 3- 5 : Suivi de la concentration en oxygène avec la « single-OUR method » (d'après Xu et Hasselblad, 1996)

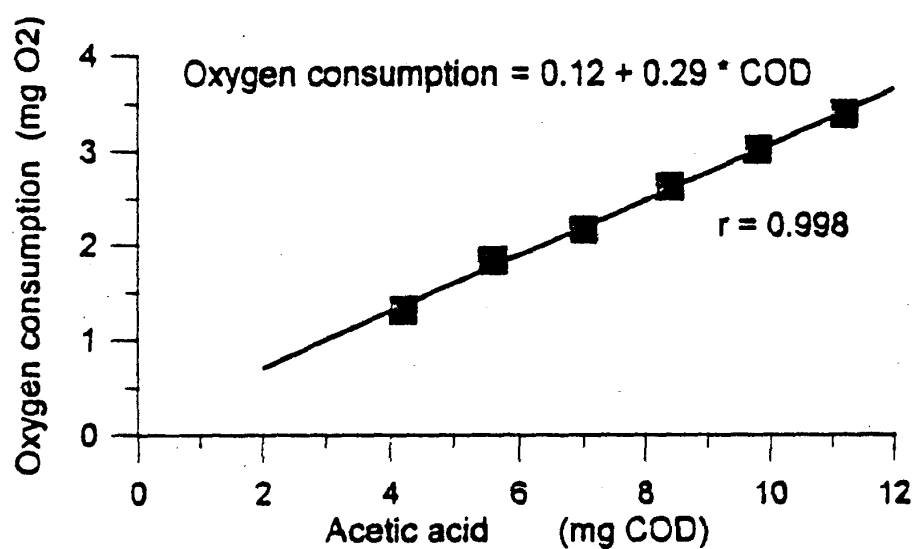


Figure 3- 6 Courbe de calibration obtenue avec de l'acide acétique (d'après Xu et Hasselblad, 1996)

Une fois la fraction rapidement biodégradable estimée grâce aux méthodes décrites ci-dessus, la fraction lentement biodégradable de la DCO totale est déterminée par calage en utilisant un pilote de STEP en laboratoire, ou en travaillant directement sur la station (IWA).

2.3. Autres méthodes

Des méthodes plus simples ont été proposées et sont encore à l'étude. Une séparation physique, par exemple, a été proposée pour la détermination de la fraction rapidement dégradables; elle est basée sur l'hypothèse que cette fraction est soluble et composée de petites molécules (Bortone et al., 1993; Torrijos et al., 1994). Cependant, le choix de la porosité des filtres est controversé, variant d'un auteur à un autre et paraissant dépendre de la qualité de l'eau usée étudiée (Bortone et al., 1993; Dold et al., 1986; Torrijos et al., 1994). Ce type d'approche est très discutable puisque plusieurs études ont montré que, dans certains cas, la matière organique dissoute peut très bien être totalement inerte. Nous avons donc écarté ce type de méthode pour la caractérisation de la biodégradabilité de la matière organique.

3. Les différences de concepts entre les modèles HSB et ASM

Plusieurs différences d'importances variables distinguent le modèle HSB et les modèles ASM. Par exemple, en ce qui concerne le rendement de croissance qui est défini comme étant le rapport entre la biomasse produite et l'oxygène consommé pour l'IWA et comme le rapport entre la biomasse produite et le carbone utilisé dans le modèle HSB. Outre la différence de mode de calcul, les 2 groupes de travail (utilisateurs des modèles ASM et HSB) utilisent des valeurs différentes. Dans le modèle ASM1, $Y_H = 0.63 \text{ g DCO} / \text{g DCO}$ alors que pour dans le modèle HSB appliqué aux rivières $Y_H = 0.25 \text{ gC} / \text{gC}$.

Une autre différence entre les modèles tient à la conceptualisation des termes de perte de biomasse. Pour les auteurs du modèle HSB, les bactéries meurent selon une cinétique du premier ordre, et leur biomasse est recyclée dans les différentes classes de matière organique. Plusieurs versions ou adaptations des modèles de l'IWA proposent à la fois le concept de mortalité (avec ou sans redistribution de composés après mortalité) et des concepts de

respiration endogène qui amènent à une disparition de biomasse lorsqu'elle ne trouve plus suffisamment de substrats à consommer pour satisfaire à ses besoins physiologiques (hors croissance) (Low et Chase, 1999, par exemple).

La Figure 3- 7 présente les variations de la consommation en oxygène en fonction du temps pour diverses valeurs de taux de recyclage de la biomasse (noté f_p) en matière organique particulaire inerte (X_p) (voir les équations du modèle ASM1 Tableau 2-1) lors d'une simulation numérique avec le modèle ASM1. Les conditions opératoires initiales sont les suivantes : concentration en biomasse = 40 g DCO.m^{-3} , concentration en matière organique = 2.5 g DCO.m^{-3} de composés directement assimilables (S_s) et 2.5 g DCO.m^{-3} de matière organique hydrolysable (X_s). La Figure 3- 7 montre que les concepts de rendement de croissance et de mortalité sont fortement liés dans ASM1. En effet, plus la fraction de biomasse bactérienne recyclée en matière organique particulaire biodégradable ($1-f_p$) est élevée, plus la production de matière organique dissoute (MOD) par hydrolyse de cette matière organique particulaire biodégradable est élevée et donc induit une surconsommation en oxygène lors de l'assimilation de la MOD par la biomasse. Ce qui signifie que le rendement de croissance apparent (i.e. déterminé graphiquement par mesure de l'oxygène consommé) sera d'autant plus grand que le taux de recyclage en matière organique particulaire biodégradable de la biomasse bactérienne ($1-f_p$) sera faible. Ceci montre que le rendement de croissance apparent prend une valeur différente selon que le modèle présente une forte ou faible valeur du taux de recyclage de la biomasse. Dans la publication n°2, une forte corrélation entre rendement de croissance et taux de recyclage de la biomasse est mentionnée. Ceci peut expliquer le fait que les rendements de croissance peuvent avoir des valeurs significativement différentes en fonction des modèles et de leur concept de mortalité.

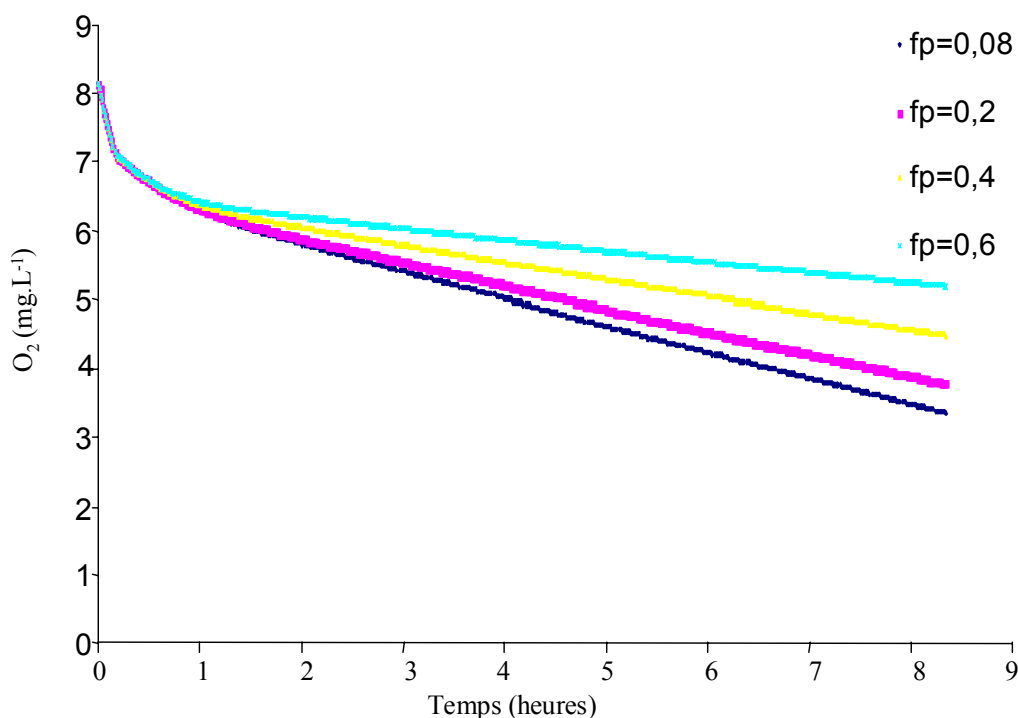


Figure 3- 7 Teneur en oxygène dissous en fonction du temps pour diverses valeurs du taux de recyclage de la biomasse en matière organique particulaire.

4. Les complémentarités des concepts

Dans l'optique d'une modélisation intégrée, la complémentarité des 2 approches apparaît tout à fait nécessaire : les techniques de fractionnement de la matière organique en classes de biodégradabilité présentent une différence majeure dont il est possible de tirer partie. La technique proposée par Servais et al. (1995a) permet d'estimer la fraction réfractaire (particulaire et dissoute), i.e. la fraction non dégradée au bout de 40 jours d'incubation. Les techniques basées sur des mesures de respiration utilisées par les utilisateurs des modèles ASM de l'IWA permettent d'accéder à la fraction de la matière organique la plus rapidement biodégradable. La combinaison des 2 approches peut être riche d'enseignements puisqu'elle devrait permettre de quantifier les fractions rapidement biodégradables, lentement biodégradables et réfractaires.

Les techniques proposées par le groupe de travail de l'IWA permettent d'accéder à la matière organique totale (DCO totale) et à la fraction très rapidement dégradée. Le résiduel non rapidement dégradé de la fraction dissoute est parfois assimilé à la fraction lentement dégradé, la fraction particulaire étant considérée comme non dégradé. Le manque de fondement de cette assimilation sémantique entre dégradabilité et solubilité est mentionné dans les documents de l'IWA. Au contraire, l'autre approche permet d'estimer une fraction

réfractaire totale, qui permet d'accéder par différence à la somme des autres fractions. Sous l'hypothèse que les transferts entre particulaire et dissous (physiques ou biologiques au travers de la production de biomasse) soient négligeables, on peut également distinguer entre les fractions dégradables particulaires et dissoutes.

5. Les objectifs

Notre principal objectif est de mettre en place une méthode qui nous permette de fractionner la matière organique dissoute des eaux en classes de biodégradabilité. Cette méthode devrait être applicable sur tout le continuum i.e. en réseau d'assainissement, en station d'épuration et en rivière ceci dans l'optique de modéliser le système dans son intégralité d'une manière homogène. Les sorties d'un sous-système (réseau ou station) devenant en partie les entrées d'un autre, il est indispensable de veiller à la compatibilité des variables décrivant la matière organique et la biomasse. En ce qui concerne la matière organique, l'objectif est d'étudier la compatibilité entre les classes de biodégradabilité définies en station d'épuration et en milieu naturel récepteur. Il est tentant de considérer ces classes comme incompatibles car les matières organiques et les temps de séjour dans les systèmes naturels (milieu récepteur) ou artificiel (station d'épuration) sont globalement différents et ce qui apparaît comme non dégradé à l'échelle des faibles temps de séjour de l'eau dans une station d'épuration sera éventuellement défini comme dégradé dans le milieu récepteur. Pourtant, les eaux circulant d'un système à un autre, la jonction des variables doit être faite. Pour répondre à ces objectifs, il convient d'utiliser des méthodes applicables sur tout le continuum de manière à ce que les résultats obtenus soient compatibles sur tout le continuum.

Comme le montre la Figure 3- 8, les méthodes utilisées par les deux approches décrites ci-dessus présentent certains points communs et certaines différences. En effet, les deux méthodes visent à distinguer la fraction de matière organique biodégradable de la fraction de matière organique réfractaire. La méthode de Servais et al. (1995a) permet de quantifier les fractions biodégradables dissoutes et particulaire à la différence des méthodes de type respirométriques. Ces dernières méthodes calculent la fraction lentement biodégradable par différence entre inerte et rapidement biodégradable. De plus, nous ne savons pas a priori si les deux méthodes donnent lieu à des fractions inertes identiques.

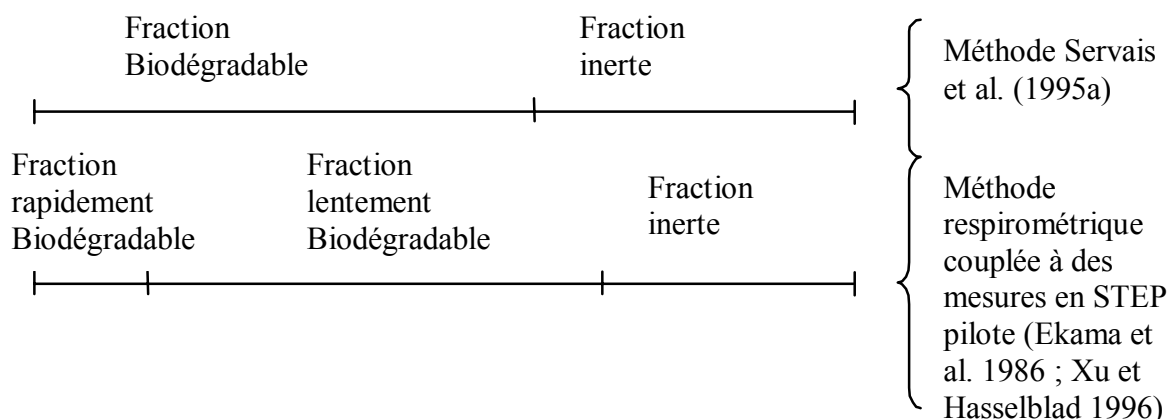


Figure 3- 8 : Comparaison des caractérisations de la biodégradabilité de la matière organique

Exception faite pour la méthode de Servais et al. (1995) qui a été utilisée, tout aussi bien, sur des eaux usées traitées ou pas que sur des eaux de rivières pour l'estimation de la fraction biodégradable, nombre de mesures (taux de croissance, fractionnement de la matière organique en classes de biodégradabilité) sont, en général, réalisées suivant des protocoles adaptés au milieu considéré. Cette dernière remarque fait apparaître de façon claire le problème des interfaces. Le point crucial concerne la manière de réunir deux modèles présentant des descriptions de la matière organique très différentes en terme de biodégradation.

Une partie importante de cette thèse consiste à évaluer et comparer les différentes méthodologies utilisées pour caractériser à la fois la matière organique dans les différents milieux et selon les différentes disciplines afin de mettre en évidence des passerelles entre les différentes approches.

6. A la recherche d'une technique de caractérisation de la biodégradabilité de la matière organique applicable sur tout le continuum

Nous souhaitons, ici, mettre en place une méthode de type respirométrique qui permettrait de déterminer la fraction de matière organique rapidement biodégradable à la fois sur des eaux usées et sur des eaux de rivière. La détermination de cette fraction est très importante car c'est

elle qui est susceptible d'évoluer le plus rapidement au cours du transfert de l'eau dans le continuum et de provoquer une désoxygénation dans le réseau d'assainissement ou dans le milieu récepteur après le rejet de station d'épuration.

La distinction entre la fraction de matière organique rapidement et lentement biodégradable est fort délicate sans référence à une échelle de temps, qui peut être le temps de transit de l'eau dans le système considéré (le réseau, la station d'épuration ou le milieu récepteur). Ces temps de transit variables, ne permettent pas de définir une distinction pertinente entre les deux. De fait, il est plus judicieux de faire référence aux propriétés physiologiques de la biomasse hétérotrophe et de considérer comme rapidement biodégradable la matière organique dont la cinétique de dégradation est limitée par le taux de croissance maximal de la biomasse.

Dans le modèle HSB, les variables HD1 et HD2 représentent la matière organique dissoute rapidement et lentement hydrolysable respectivement. Pour une concentration donnée de biomasse (B), le flux de production de substrats simples (S) à partir de la décomposition de HD1 est donnée par :

$$e_{1,\max} \cdot \frac{HD_1}{k_{HD_1} + HD_1} \cdot B$$

De même, le flux de production de substrats simples (S) à partir de la décomposition de HD2 est donnée par :

$$e_{2,\max} \cdot \frac{HD_2}{k_{HD_2} + HD_2} \cdot B$$

L'utilisation du substrat S est donnée par : $\frac{\mu_{\max}}{Y} \cdot \frac{S}{K_s + S} \cdot B$

A saturation en HD1 et HD2, le taux de décomposition de HD1 est supérieur au taux d'utilisation des substrats formés tandis que le taux de décomposition de HD2 est plus faible. Ce dernier est le facteur limitant pour les bactéries les plus actives. Cette différence entre les deux types de substrats est amplifiée lorsque les quantités de biomasse mises en jeu deviennent importantes.

Les graphiques suivants présentent les productions cumulées de CO_2 (mgC/l) lors de la simulation de la dégradation de matière organique avec les modèles HSB et ASM.

Dans la série de simulations (Figure 3- 9), nous considérons un ajout de carbone organique dissous de 5 mgC/l sous différentes formes (S, HD1, HD2, ou une combinaison de HD1 et HD2) à une boue vieillie. Nous faisons l'hypothèse que la seule source de carbone dans cette boue est du carbone particulaire qui se décompose en HD1. Le graphique présente la consommation excédentaire par rapport à la consommation mesurée dans la boue avant ajout. Les ajouts de S et HD1 provoquent une consommation très rapide, au taux maximum permis par le stock de bactéries présentes dans la boue, puis la consommation diminue lorsque le stock de S et HD1 est épuisé. La respiration est ralentie, car limitée par l'hydrolyse de HD2. Les deux phases de respiration décrites précédemment sont facilement identifiables ce qui devrait nous permettre une évaluation précise de HD1+S. Avec les modèles ASM1 et ASM3, l'ajout de S_s provoque aussi une consommation très rapide au taux maximum puis la consommation diminue lorsque S_s est épuisé.

La seconde série de simulations (Figure 3- 10) représente la dégradation des mêmes eaux, mais cette fois-ci en présence d'une quantité de biomasse initiale plus faible que dans la série de simulations présentées à la Figure 3- 9, les simulations de la Figure 3- 10 sont représentatives des mesures dont nous disposons aujourd'hui dans le cas d'expériences batch. Ces simulations montrent qu'une dégradation significative du carbone n'est atteinte qu'au bout de temps assez longs (10 heures pour HD1 et S, beaucoup plus pour HD2). De plus, au bout de 50 heures (par exemple), la fraction de HD2 dégradée est loin d'être fixe, mais elle dépend de la quantité de HD1 et S initialement présente, car ce sont ces substrats qui ont permis la croissance de la biomasse qui permettra la dégradation de HD2. Pour ASM1 et ASM3, il faut environ 40 heures pour observer une pente de production de CO_2 constante, ce qui correspond à l'épuisement de S_s .

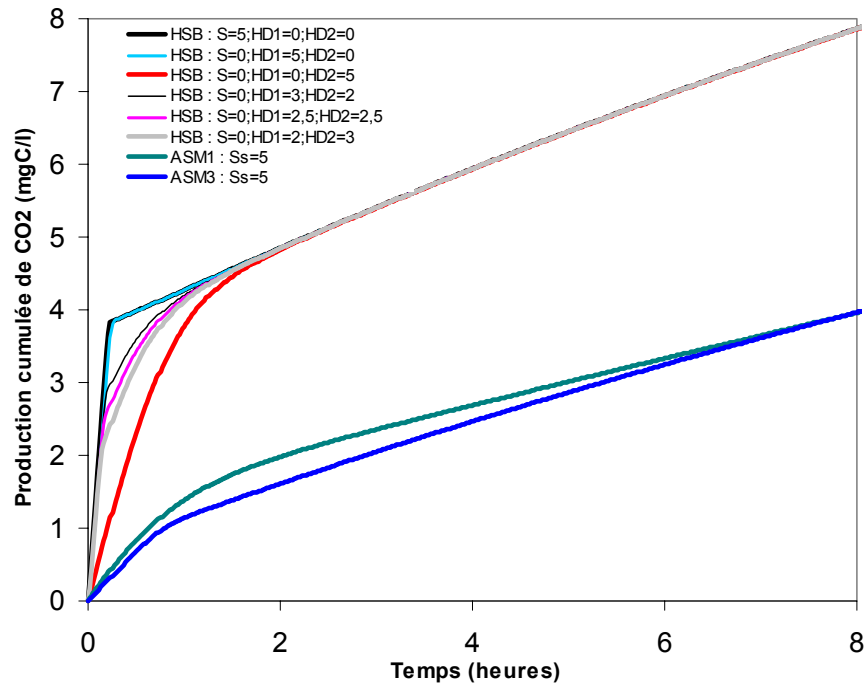


Figure 3- 9 : Production de C-CO₂ simulée par les modèles HSB, ASM1 et ASM3 en présence de 40 mgC/l de biomasse bactérienne et 5 mgC/l de carbone organique dissous biodégradable

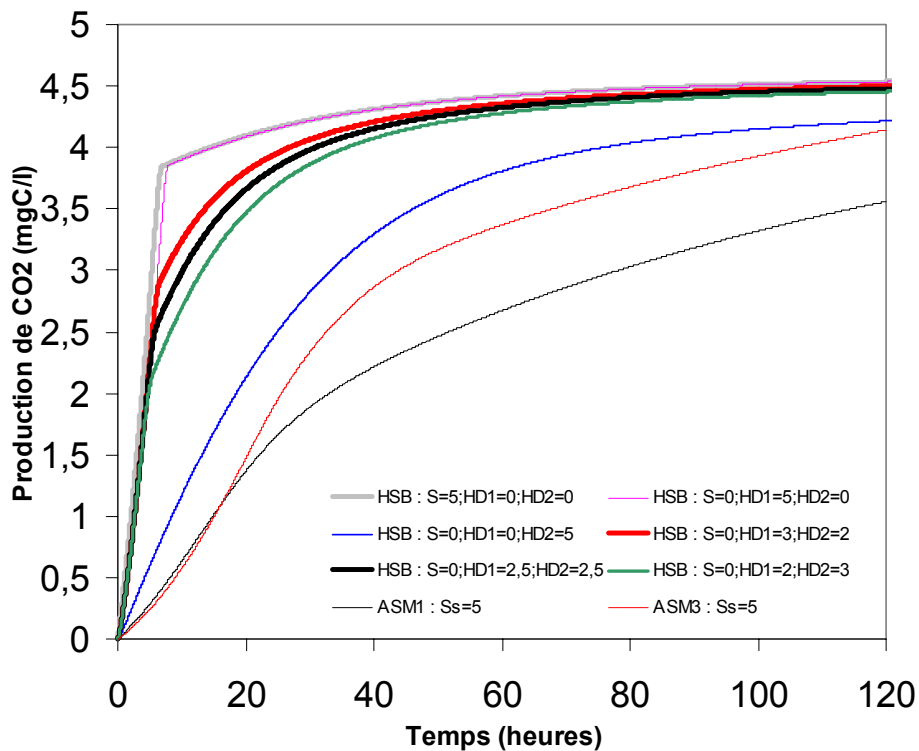


Figure 3- 10 : Production de C-CO₂ simulée par HSB, ASM1 et ASM3 en présence de 1 mgC/l de biomasse bactérienne

Ces simulations suggèrent qu'un suivi de la consommation d'oxygène après un ajout de l'échantillon à une boue primaire vieillie est un test potentiellement efficace pour fractionner

la matière organique biodégradable puisque, dans les conditions opératoires de la figure 3-9, il est possible d'estimer une fraction rapidement biodégradable. Ce test est proche de la technique proposée par l'IWA sauf que les teneurs en biomasse et matières organiques sont plus faibles. De plus, l'utilisation d'une boue primaire plutôt qu'une boue activée nous semble permettre d'obtenir un état quasi-stationnaire plus stable, comme l'avaient suggéré Vollersten et Hvivtved-Jacobsen (1998) dans leurs expérimentations à partir de dépôts de réseau d'assainissement.

Après ce premier travail d'analyse et de critique des méthodes existantes, une méthodologie permettant d'estimer les jeux de paramètres optimaux, leurs incertitudes et corrélations sera mise en place. À partir de cette méthodologie, quelques modèles seront passés en revue et testés avec de l'acétate comme substrat. La robustesse de ce modèle sera ensuite évaluée avec différents rapports substrat/bactéries (i.e. S/X) à l'aide d'eaux usées provenant d'un réseau d'assainissement. En effet, d'après plusieurs chercheurs (Liu et al., 1996 ; 1998 ; 2000 ; Chudoba et al., 1990 ; 1992), il semble que ce rapport S/X joue un rôle prépondérant du point de vue des énergies mises en jeu lors de la dégradation de la matière organique par les micro-organismes. De plus, selon le milieu (réseau, station ou rivière), le rapport S/X est très différent. Enfin le but ultime de ce travail consiste, à partir du même modèle et de la même optimisation de quantifier les différentes fractions de biodégradabilité de la matière organique dissoute provenant d'eaux usées de réseau d'assainissement, d'entrée et de sortie de station d'épuration et de rivière.

Chapitre 4 : METHODOLOGIE

Ce chapitre vise à décrire la méthodologie mise en œuvre dans ce travail afin de fractionner la matière organique dissoute en classes de biodégradabilité pour des eaux usées et des eaux naturelles.

La méthodologie appliquée résulte du couplage de deux méthodes :

- méthode respirométrique (Xu et Hasselblad, 1996) qui permet de caractériser la fraction de matière organique dissoute rapidement biodégradable
- méthode de Servais et al. (1995) qui permet de caractériser les fractions biodégradable et réfractaire de la matière organique dissoute.

La méthode d'assimilation de données décrite dans le paragraphe 3 suivant nous permet de combiner de façon optimale un modèle choisi et le résultat des mesures obtenu grâce aux deux méthodes précédemment citées.

1. Procédure expérimentale

1.1. Méthodologie pour estimer la fraction de matière organique biodégradable dans une eau usée ou de rivière

Servais et al. (1995a) ont proposé une procédure simple basée sur un bilan de carbone pour estimer la fraction de COD et de COP dégradables lors d'expériences en batch (voir chapitre 3). Cette procédure a été appliquée sur des eaux usées de réseau (Seidl et al., 1998), sur des eaux brutes et traitées de station d'épuration (Servais et al., 1999 ; Tusseau-Vuillemin et Le Réveillé, 2001) ainsi que sur des eaux naturelles (Servais et al., 1995a). Cette méthodologie présente, cependant, un inconvénient pratique : un bullage d'air a lieu dans le réacteur afin d'apporter suffisamment d'oxygène pour que la dégradation de la matière organique se déroule durant tout l'essai en aérobiose. Pour éviter d'apporter du carbone via le bullage, l'air est traité en passant successivement dans un bain d'acide sulfochromique et un bain d'eau distillée. L'usage de cet acide est dangereux et de plus limitant car la procédure ne permet pas de suivre un grand nombre de réacteurs en parallèle. C'est pourquoi, la publication n°1 (reprise en annexe) propose une méthode alternative pour suivre la dégradation des échantillons de matière organique qui consiste à ajouter des nitrates et donc de réaliser une dégradation de la matière organique en conditions anoxiques.

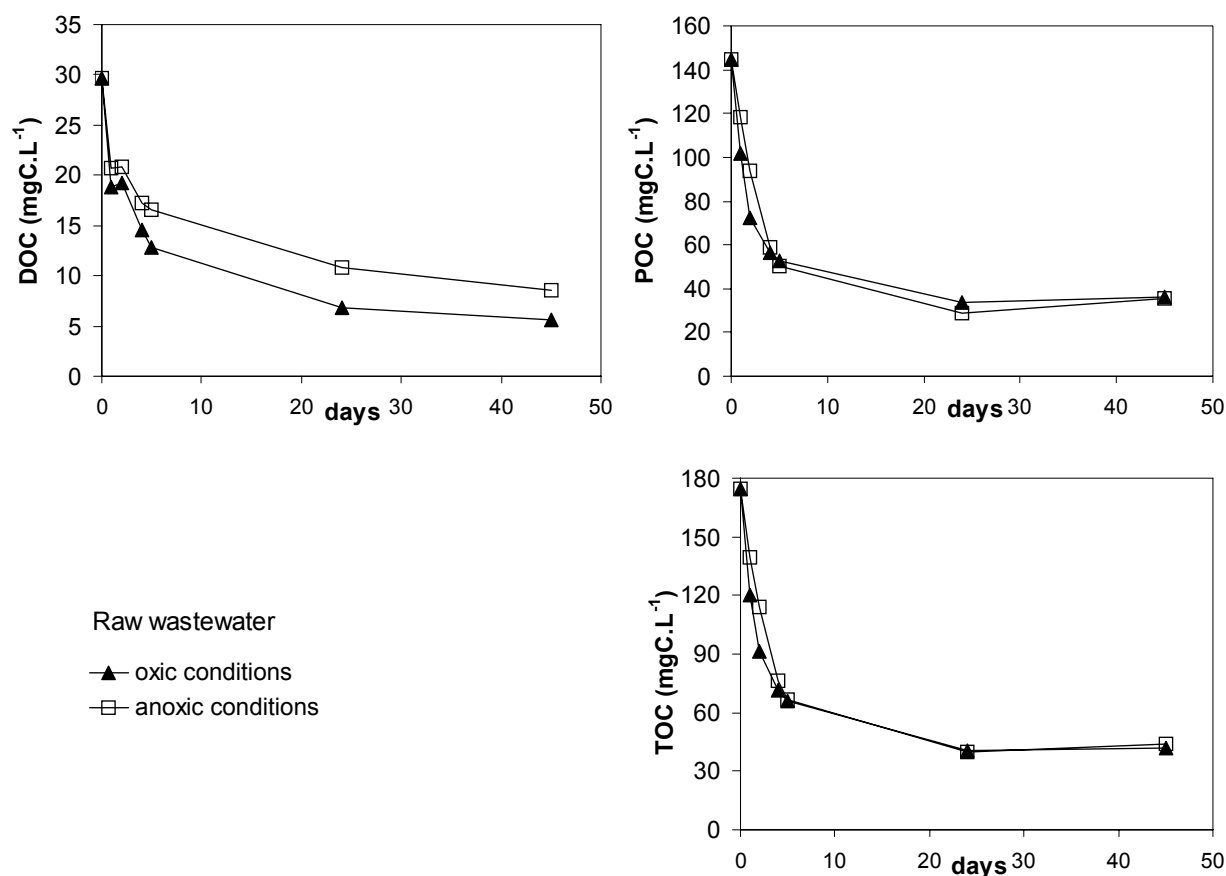


Figure 4- 1 cinétique de dégradation pour des eaux usées brutes durant 45 jours d'incubation en conditions oxiques et anoxiques

Comme le montre la Figure 4-1, les fractions biodégradables de matière organique obtenues avec le protocole d'incubation en anoxie sont légèrement plus faibles que celles obtenues en conditions aérobies. Pour expliquer cela, plusieurs hypothèses sont avancées. La première consiste à dire que le taux de dégradation de la matière organique lentement biodégradable est réduit en conditions anoxiques en raison de l'activité réduite des processus enzymatiques (Zehnder et Colberg, 1986). La deuxième hypothèse concerne la production de matière organique réfractaire en conditions anoxiques. Dans ces conditions, la mortalité des bactéries hétérotrophes est accrue, ces dernières n'étant pas adaptées aux conditions du milieu. Cette mortalité, qui est estimée à 40-60% de la biomasse initiale selon Kristensen et al. (1992), engendre ainsi une production significative de matière organique puisque la biomasse initiale est estimée à environ 10% du carbone organique biodégradable total dans les eaux usées (Seild et al., 1998 ; Servais et al., 1999) et même supérieur à 20% selon Henze et al. (1992). La production de matière organique réfractaire en conditions anoxiques peut aussi être induite

par une activité de broutage réduite dans ces conditions qui serait responsable du ralentissement du recyclage de la matière organique stockée dans la biomasse.

La différence, de 7% en moyenne, sur l'estimation de la matière organique dégradable, en aérobiose et anoxie, reste suffisamment faible pour que le protocole en conditions anoxiques puisse être proposé comme une méthode alternative convenable. C'est celui-ci qui est adopté dans la suite de ce travail.

1.2. Méthodologie pour estimer la fraction de matière organique rapidement dégradable dans une eau usée ou une eau de rivière

1.2.1. Instrumentation

Un réacteur de 300 ml, maintenu à 20°C et agité avec barreau aimanté, a été utilisé pour les expériences de respirométrie (Photo 4- 1). La concentration en oxygène dissous est suivie avec un oxymètre (modèle YSI 58 ou 52) connecté à un boîtier d'acquisition de données (CR2M-SAB600) ou directement sur le port série de l'ordinateur. Les sondes à oxygène sont systématiquement séchées et calibrées dans de l'air saturé en eau à 20 °C avant chaque expérience. De très faibles variations ont été observées entre deux calibrations successives. Pour la mesure dans l'eau saturée en air, une correction de 3 à 4% (en fonction de la sonde) a été appliquée en raison de l'agitation insuffisante aux alentours de la sonde. Nous avons pris soin de bien maintenir une agitation constante durant les expériences. Pour la plupart des tests, un pas de temps d'acquisition des données en oxygène d'une minute a été choisi.

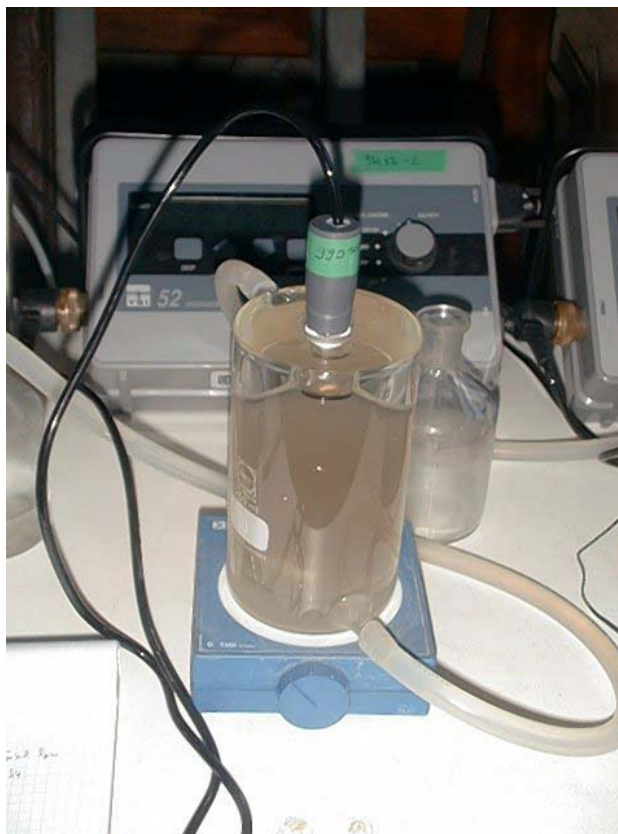


Photo 4- 1 réacteur utilisé lors du suivi respirométrique

1.2.2. Préparation de la boue

Des boues primaires ont été maintenues sous constante agitation et aération durant 2 à 5 jours afin d'atteindre une consommation en oxygène constante, appelé « plateau » (voir sur la Figure 4- 2), et une liqueur très homogène. Les boues ont été collectées dans le décanteur primaire de la station d'épuration de Noisy-Le-Grand, STEP de 28000 équivalent-habitants alimentée par un réseau unitaire. Nous avons supposé que le plateau de consommation en oxygène est atteint lorsque la matière organique rapidement dégradable a été consommée. Durant le plateau, nous émettons l'hypothèse que l'hydrolyse de la matière organique particulaire lentement dégradable est responsable de la valeur constante de l'OUR.

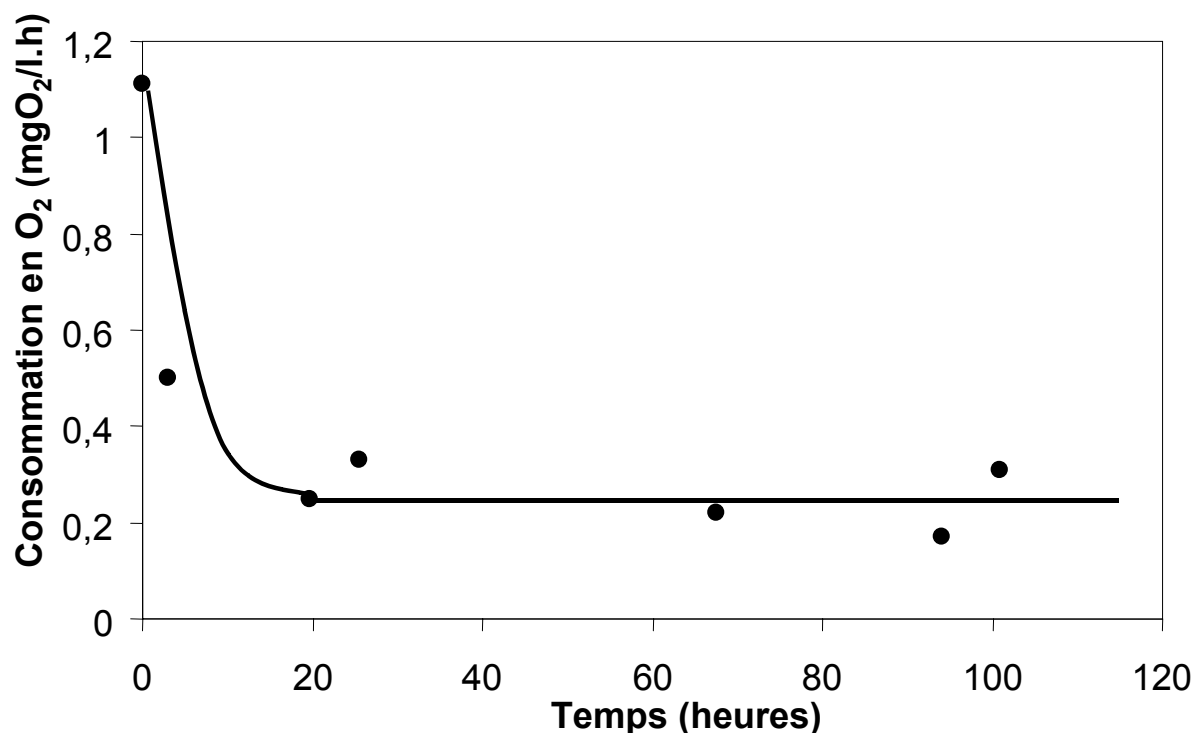


Figure 4- 2 Evolution typique de l'OUR dans une boue primaire diluée d'un facteur 7

Afin d'éviter le processus de nitrification, nous ajoutons environ 10 mg.L^{-1} de TCMP (2-chloro-6-(trichlorométhyl) pyridine), qui est un inhibiteur de nitrification, à la boue primaire durant son vieillissement.

Des expériences supplémentaires ont été réalisées pour vérifier si un ajout de TCMP directement dans le réacteur après la dilution de la boue vieillie était nécessaire. Nous n'avons trouvé aucune différence entre l'OUR mesuré dans le réacteur avec ou sans ajout de TCMP. Ce qui signifie que la nitrification a été inhibée dans le réacteur, probablement car le développement des bactéries nitrifiantes a été considérablement réduit par l'ajout de TCMP durant le vieillissement de la boue. Nous avons aussi ajouté du sel d'ammonium dans le réacteur et n'avons observé aucune différence dans l'OUR entre les échantillons avec ajout d'ammonium et sans. Ceci prouve que la nitrification, si elle existe, est déjà saturée par l'ammonium apporté par la boue. On note aussi que, comparée à une boue activée, une boue primaire est plus jeune et par voie de conséquence la concentration en bactéries nitrifiantes est moindre que dans une boue activée.

1.2.3. Préparations des dilutions

La méthode, appelée single-OUR method (Xu et al., 1996) est basée sur le suivi de l'OUR dans un réacteur contenant la boue et l'eau à tester et quelques sous-produits de la boue. Un avantage de cette méthode est qu'elle peut s'appliquer sur des eaux peu chargées en matière organique telle que les eaux de rivière. Toutes les dilutions de la boue primaire ont été réalisées avec de l'eau de source qui présente une faible teneur en carbone organique ($\pm 0.4 \text{ mg.L}^{-1}$) et pas de matière organique rapidement dégradable. L'eau du robinet n'a pas été utilisée en raison de son effet bactéricide dû au chlore.

Le surnageant dans les boues primaires vieilles est constitué d'eau usée (incluant notamment de l'ammonium, de l'urée et des phosphates dissous) et des nutriments provenant de la dégradation de la matière organique particulaire durant les premiers jours. Dans le cas des expériences avec ajout d'acétate, ces nutriments sont en large excès pour assurer la dégradation de l'acétate apporté dans le réacteur. Par conséquent, nous avons décidé de ne pas ajouter de nutriment dans le réacteur. L'ajout d'acétate se fait sous la forme d'acétate de sodium.

1.2.4. Estimation de la biomasse bactérienne

Dans une boue primaire, il est impossible de calculer la biomasse bactérienne (X_H) à partir de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) des matières en suspension à cause de la quantité importante de matière organique particulaire restante qui interfère. Par voie de conséquence, la biomasse a été estimée par microscopie en épifluorescence. Les échantillons prélevés sont conservés dans 2% de formaldéhyde et à une température de 4°C jusqu'à l'analyse. Avant l'observation au microscope, les échantillons sont marqués avec du DAPI (4,6-diamino-2-phénylindole), un fluorochrome spécifique de l'ADN, en suivant la procédure de Porter et Feig (1980) légèrement modifiée. Après sonication (à une puissance de 50 Watt) durant 45 secondes, un échantillon de 67 μL est ramené à 1 mL avec de l'eau filtrée sur 0.22 μm . Cet échantillon est maintenu au contact d'un excès de DAPI (1 mL de DAPI à 2mg / L) puis filtré sur une membrane noire en polycarbonate (Nucléopore, de porosité 0.22 μm et de diamètre 25 mm). La membrane est montée entre une lamelle et une lame couverte d'une pellicule d'huile d'immersion (Olympus-BH2 x 1250). 20 à 25 images sont prises pour chaque filtre avec une caméra Kappa DX20. Des images numérisées sont ensuite traitées en utilisant un logiciel de

traitement d'images (Couprie, communication personnelle) qui isole efficacement les zones de fortes intensités lumineuse de leur voisinage, même lorsque ces zones sont entourées d'un halo plus ou moins flou. Etant donné qu'aucune bactérie de type vibrio (bactérie en forme de U) n'a été observée, toutes les bactéries sont assimilées à des bâtonnets cylindriques avec des extrémités hémisphériques. Cette hypothèse permet de calculer un volume pour chaque bactérie à partir d'une image à 2 dimensions. La biomasse est ensuite estimée grâce à la relation entre teneur en carbone organique et biovolume établie par Simon et Azam (1989) et le facteur de conversion ($20 \cdot 10^{-11}$ mgDCO/cellule) proposé par Münch et Pollard (1997) pour obtenir la biomasse en unités de DCO.

1.2.5. Dilution de la boue primaire

Les expériences du blanc (i.e. suivi de la consommation d'oxygène pour un mélange boue et eau minérale seulement) ont été réalisées avec différentes dilutions 3/350 (v : v), 15/350, 100/300 et 100/350. L'OUR reste constante durant toute l'expérience quel que soit la dilution. La Figure 4- 3 montre qu'il existe une très bonne corrélation entre l'OUR et le taux de dilution.

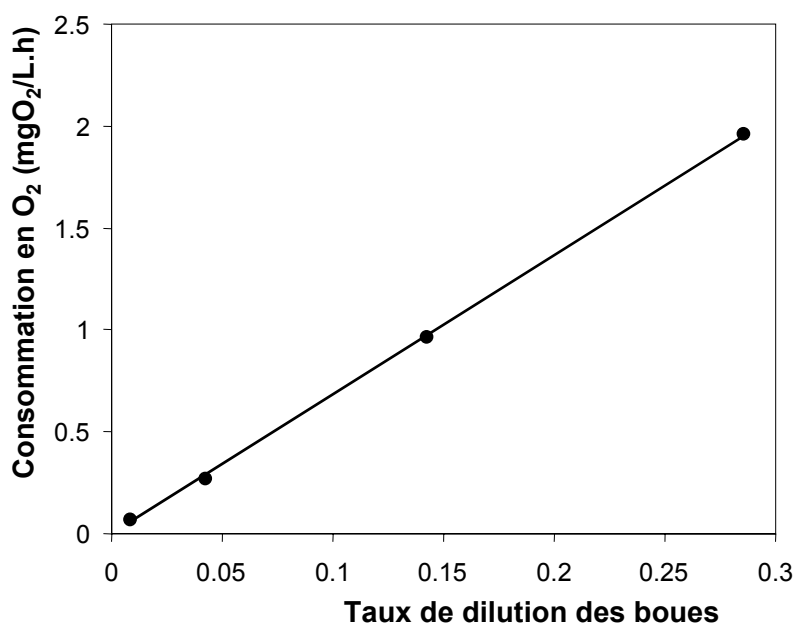


Figure 4- 3 Taux de consommation en oxygène d'un mélange boue primaire et eau minérale en fonction de la dilution de la boue

Ceci signifie qu'une seule expérience (une seule dilution) suffit pour caractériser l'activité respiratoire de la boue seule quel que soit la dilution. De plus, l'hypothèse selon laquelle un

flux constant de matière organique biodégradable serait généré par le matériel particulaire est ainsi confirmée.

Enfin, un ajout d'acétate (composé facilement dégradé) provoque une consommation à taux constant quel que soit l'ajout, ce qui peut donc s'apparenter au taux maximal de respiration par la biomasse de la boue lorsque ce substrat est saturant. Comme nous l'avons mentionné au chapitre 3, paragraphe 2.5., c'est cette respiration à taux maximum qui nous permettra de caractériser la matière organique rapidement dégradée.

2. Optimisation mathématique des simulations d'expériences

L'outil mathématique utilisé dans ce travail présente l'avantage de pouvoir imposer autant de contrainte que l'on souhaite. L'introduction d'un grand nombre de paramètres est possible et peu coûteuse en terme de calcul. De plus, cet outil est modulaire i.e. il est facile à adopter sur un autre modèle.

2.1. Procédure pour l'estimation des valeurs des paramètres et des conditions initiales des variables d'un modèle

Les résultats expérimentaux, appelés observations et notés x^{obs} dans la suite, sont constitués de séries de données d'oxygène obtenues pour diverses dilutions d'une boue primaire vieillie et d'un éventuel ajout d'acétate, d'eaux usées ou de rivière. L'estimation des valeurs des paramètres ($p \in \mathbb{R}^p$) et des conditions initiales ($x_0 \in \mathbb{R}^N$) est réalisée de manière classique en minimisant une fonction coût (J) qui correspond à la somme de la différence des carrés entre données d'oxygène observées et simulées.

L'équation différentielle, définie sur un intervalle de temps $]0, T]$, décrivant le système biologique peut être écrite comme suit :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{dt} = M(p, x, t) \quad \text{dans }]0, T]; \\ x(0) = x_0. \end{array} \right. \quad (1)$$

La fonctionnelle J que nous souhaitons minimiser s'écrit :

$$J(p, x_0) = \frac{1}{2} \int_0^T \langle W(Cx(t) - x^{obs}), (Cx(t) - x^{obs}) \rangle dt \quad (2)$$

où le symbole C est utilisé pour indiquer un opérateur linéaire d'un espace continu dans un espace discret de données observées et où $x(t)$ est la solution du système de l'équation différentielle décrivant le modèle, avec les paramètres p et les valeurs initiales x_0 .

En choisissant des valeurs de départ pour les paramètres et les conditions initiales, une méthode d'optimisation de type gradient conjugué ou quasi-Newton permet de construire itérativement le couple (p^*, x_0^*) minimisant J . Pour être efficace, ces algorithmes nécessitent des estimations rapides et précises du gradient de J (∇J), ce qui constitue un problème numérique majeur et qui sera discuter dans le paragraphe suivant.

2.2. Calcul du gradient de J

Durant les trois dernières décennies, la théorie de contrôle optimal a été développée dans un grand nombre de domaine de recherche. Aujourd'hui de telles méthodes sont couramment utilisées pour résoudre des problèmes de grande taille (par exemple de l'ordre du million d'inconnues en météorologie). En utilisant la théorie du contrôle optimal, nous avons construit un outil capable de prendre en compte de nombreuses contraintes, de traiter un grand nombre de paramètres et de conditions initiales, et de modifier le modèle biologique de manière aisée.

Pour calculer le gradient de J , on différentie la fonction composée constituée du modèle biologique (1) et de la fonction coût (2) par rapport aux paramètres et aux conditions initiales. La différentiation de (2) conduit au système linéaire tangent dont les données d'entrée sont le vecteur de paramètre p , l'état initial x_0 et un terme de perturbation $(\delta p, \delta x_0) \in \mathbb{R}^{P+N}$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d(\delta x)}{dt} = \left[\frac{\partial M}{\partial x}(p, x, t) \right] \delta x + \left[\frac{\partial M}{\partial p}(p, x, t) \right] \delta p, \quad \forall t \in]0, T] \\ \delta x(0) = \delta x_0. \end{array} \right. \quad (3)$$

En calculant la solution δx permet de calculer la composante de ∇J dans la direction $(\delta p, \delta x_0)$ par l'intermédiaire de la formule

$$\nabla J(p, x_0) \cdot (\delta p, \delta x_0) = \frac{1}{2} \int_0^T \langle W(Cx(t) - x^{obs}), C \delta x(t) \rangle dt. \quad (3bis)$$

Le calcul de toutes les composantes de ∇J demande des évaluations préalables de $P+N$ ODE données par le système linéaire tangent. Le même nombre de calculs est nécessaire pour la solution la moins précise consistant à approcher la valeur du gradient en utilisant la méthode des différences finies sur J . Lorsque $P+N$ est grand, le coût d'évaluation du gradient est trop important, et on a recours à la différentiation en mode adjoint décrite ci-dessous.

Soit $(\hat{p}, \hat{x}_0)$ la solution du *système adjoint*

$$\begin{cases} \frac{d\hat{x}}{dt} + \left[\frac{\partial M}{\partial x}(p, x, t) \right]^* \hat{x} = C^* W(Cx(p, t) - x^{obs}(t)); \\ \hat{x}(T) = 0. \end{cases} \quad (4)$$

On montre (voir Wang et al., 1992) que le gradient de J est donné par :

$$\begin{cases} \frac{\partial J}{\partial x_0}(p, x_0) = -\hat{x}(0); \\ \frac{\partial J}{\partial p}(p, x_0) = -\int_0^T \left[\frac{\partial M}{\partial p}(p, x, t) \right]^* \hat{x} dt. \end{cases} \quad (5)$$

Le calcul de toutes les composantes de ∇J demande une évaluation de l'équation différentielle du système adjoint (4) pour obtenir les dérivées en fonction de p et x_0 . De plus, des résultats théoriques (Morgenstern, 1985) indiquent que, pour n'importe quelle instruction, le rapport entre le nombre d'opérations de l'instruction adjointe et le nombre d'opérations du instruction directe est plus petit que 5 i.e. le coût CPU est indépendant de la dimension de l'espace d'entrée. Ces résultats s'étendent à un code complet. D'un point de vue calcul, le code adjoint est intégré de manière rétrograde le long d'une trajectoire d'évaluation qui est constituée de toutes les valeurs des variables du code direct (Griewank, 2000).

2.3. Mise en œuvre pratique

Nous utilisons l'optimiseur de quasi-Newton L-BFGS-B (version 2.3, Byrd et al., 1995, Zhu et al., 1994) qui permet de résoudre les problèmes d'optimisation avec des bornes imposées aux variables à optimiser. Le code original qui résout (1) et (2) est écrit en FORTRAN 77. Nous avons choisi le différentiateur automatique Odyssée (Faure and Papegay, 1998) pour construire le code adjoint. Le programme est capable de générer des codes en FORTRAN 77 pour l'évaluation des composantes du gradient. Les techniques de différentiation automatique sont maintenant bien documentées et le lecteur peut consulter la bibliographie d'Odyssée et les références mentionnées ici pour obtenir une description complète.

Chapitre 5 : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Modélisation de la dégradation de l'acétate

Une série d'expériences a été réalisée suivant le protocole de Xu et Hasselblad (1996) (« single OUR method ») pour suivre la biodégradation de l'acétate à différents rapports substrat / biomasse. Les résultats de ces expériences ainsi que leur modélisation avec le modèle ASM1 sont décrits et discutés de manière complète dans la article 1 reprise en annexe. Les principaux résultats ainsi que les conclusions majeures du travail de modélisation sont rappelés ci-dessous.

1.1. Expérimentations et observations

Une quantité constante d'acétate (i.e. 4.8 mg DCO.L⁻¹) est ajoutée à différentes concentrations de biomasse obtenues par dilution des boues primaires vieilles (15/350 (v/v), 50/350 (v/v) et 100/350 (v/v)). Un blanc (aucun ajout d'acétate) est réalisé à partir de la dilution de boue au taux de 15/350 (v/v).

A partir de ces expériences, la concentration en oxygène dans le réacteur est suivie durant 8 heures (le pas d'acquisition des données oxygène est 0.5 ou 1 minute). L'OUR est calculé à partir des concentrations en oxygène à l'aide de la formule suivante :

$$OUR(t_i) = \frac{Oxyg(t_{i+5}) - Oxyg(t_{i-5})}{t_{i+5} - t_{i-5}} \text{ (voir Figure 5- 1).}$$

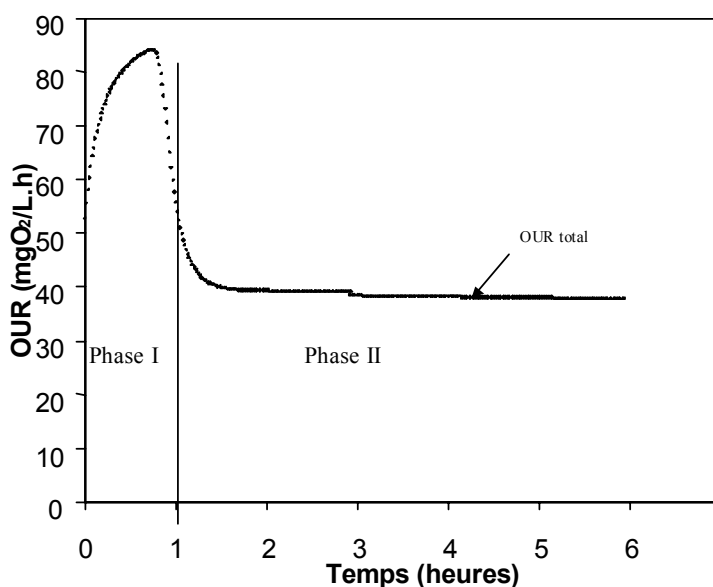


figure 5- 1: Exemple de profil respirométrique obtenu avec la « single OUR method » lors d'un ajout d'acétate (la boue est diluée d'un facteur 7)

La première phase (phase I) est caractérisée par un fort OUR et la seconde phase (phase II) par un OUR quasi-constant (appelé plateau). Contrairement à ce qui est généralement reporté dans la littérature pour les faibles S_0/X_0 (Orhon et al., 1997), une montée d'OUR est observée durant la phase I. Cette observation sera discutée ultérieurement.

1.2. Estimations du taux de croissance

Le calcul du taux de croissance bactérien durant les expériences peut être réalisé de deux façons différentes : (i) la croissance de l'OUR durant la phase I, en conditions saturantes en substrat, est due à la croissance de la biomasse ; on obtient, de cette façon, des pourcentages d'accroissement de la biomasse de 66%, 97% et 135% pour les 3 dilutions (respectivement 15/350 (v/v), 50/350 (v/v) et 100/350 (v/v)) ;(ii) lorsque le substrat est épuisé, l'OUR est proportionnel à la respiration endogène et donc à la quantité de biomasse, les accroissements de biomasse ainsi calculés sont respectivement de 19%, 27% et 42%. Les résultats obtenus diffèrent fortement.

Pour expliquer une telle différence entre les résultats, nous émettons l'hypothèse que l'accroissement d'OUR durant la phase I est plus fort que la croissance de la biomasse et que le surplus de consommation d'oxygène peut être dû à une adaptation progressive de la biomasse au substrat.

1.3. Estimations du rendement de croissance

Le rendement de croissance peut être estimé sur base des expériences de respirométrie de l'acétate en divisant la quantité d'oxygène utilisée durant la biodégradation de l'acétate par la quantité de substrat utilisée dans l'expérience (exprimée en DCO).

La procédure classiquement utilisée pour estimer la consommation d'oxygène après l'addition d'acétate suppose que, durant la phase II, l'OUR correspond à la respiration endogène du blanc. Ainsi, soustraire ce dernier à la consommation totale en oxygène permet d'obtenir la consommation d'oxygène correspondant à l'assimilation du substrat par les bactéries. La méthodologie décrite sur la Figure 5- 2 (M1) a été appliquée ici : une durée de 2 heures de plateau a été prise pour calculer la régression linéaire. Cette méthode revient à intégrer les données d'OUR. Le rendement de croissance (Y) est de 0.750, 0.749 et 0.745 respectivement pour les dilutions de 100/350, 50/350 et 15/350.

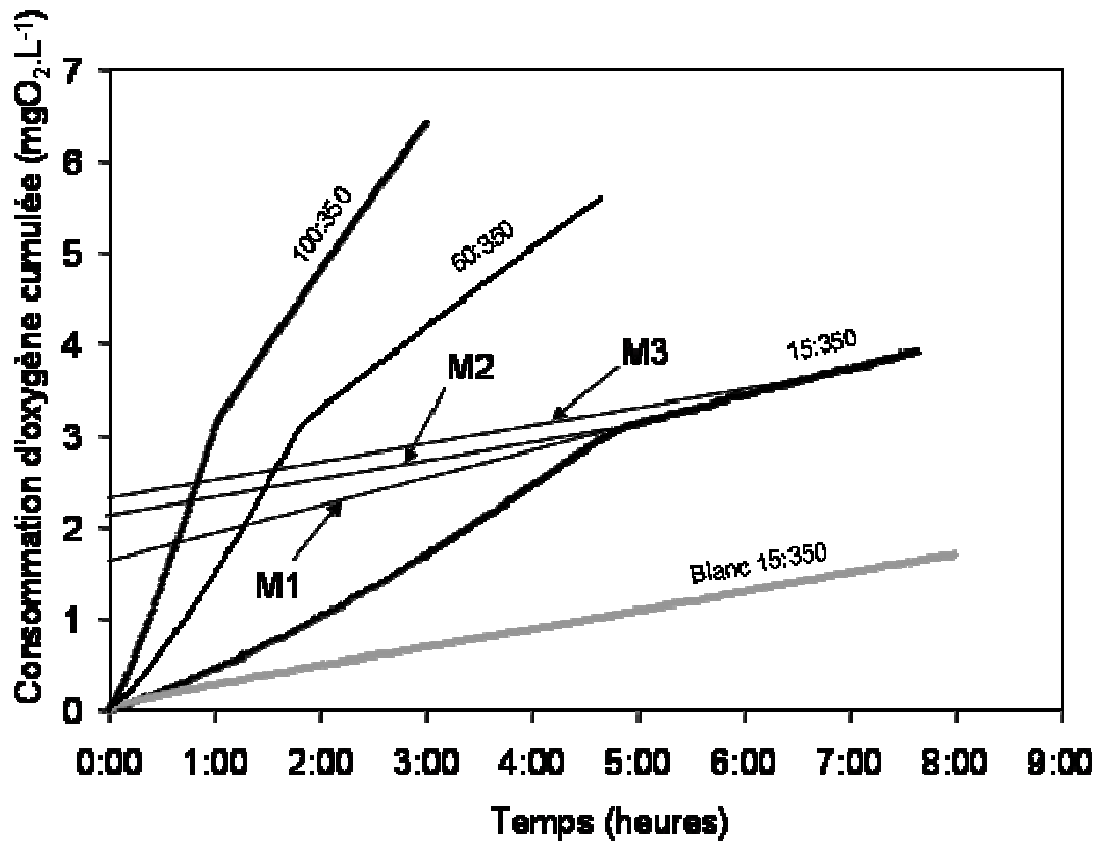


figure 5- 2 : Consommation d'oxygène cumulée pour les diverses dilutions

L'utilisation du blanc avant addition de l'acétate constitue une autre possibilité pour calculer le rendement de croissance comme présenté à la Figure 5- 2 (M2). Les rendements de croissance obtenus sont légèrement inférieurs : 0.742, 0.735 et 0.705. Une troisième hypothèse revient à considérer que durant la phase II la surconsommation en oxygène par rapport au blanc initial doit être prise en compte pour le calcul du rendement de croissance. La longueur de cette période de surconsommation est difficile à évaluer, et rien ne permet de l'identifier sur les données expérimentales, nous émettons l'hypothèse qu'elle est égale à 2 heures Figure 5- 2 (M3). Les rendements de croissance résultant sont alors de : 0.728, 0.717 et 0.692. Dircks et al. (1999) mentionnent des valeurs similaires aux alentours de 0.70 en utilisant aussi des estimations graphiques. Ces diverses méthodes graphiques d'estimation du rendement de croissance mènent à des valeurs différentes. Ce paramètre étant primordial, il n'est pas acceptable de se contenter de ces méthodes pour le déterminer. C'est pourquoi, l'utilisation d'un modèle pourrait être un moyen plus satisfaisant pour estimer ce paramètre en utilisant les données d'oxygène.

2. Modélisation de la biodégradation de l'acétate avec ASM1

ASM1, présenté précédemment (voir chapitre 2 paragraphe 2.1), utilise des relations de Michaelis pour simuler la dégradation des substrats dégradables avec un rendement de croissance. Le processus de mortalité bactérienne ne consomme pas directement de l'oxygène mais produit de la matière organique dégradable (X_S) qui s'hydrolyse en substrat rapidement dégradable (S_S) pour être ensuite assimilé par les bactéries, ce qui induit finalement une consommation d'oxygène.

2.1. Hypothèses de fonctionnement du modèle

Les concentrations dans la boue primaire vieillie résultent d'un processus de vieillissement. Ce dernier fait que l'OUR reste constant durant quelques jours (voir chapitre 4 figure 4-2). Cependant, les processus de dégradation décrits dans ASM1 consomment de la matière organique dégradable (MOD) de telle façon qu'à long terme, il ne reste théoriquement plus de MOD, plus de bactéries et par conséquent l'OUR devient nul. C'est pourquoi, nous avons émis l'hypothèse que le système est constamment alimenté par une production de X_S provenant d'un pool de matière organique lentement dégradable issu de matière organique particulaire présente dans la boue primaire. Ce flux, noté FX_S , permet au système d'atteindre un état asymptotique où l'OUR n'est pas nul. En prenant l'hypothèse que toutes les dérivées sont nulles à l'équilibre, nous arrivons aux relations suivantes pour l'état asymptotique :

$$S_S = K_S \cdot \frac{b_H / \mu}{1 - b_H / \mu} \quad (a)$$

$$X_S = X_H \cdot K_X \cdot \frac{b_H / Y_H / k_H}{1 - b_H / Y_H / k_H} \quad (b)$$

$$FX_S = b_H \cdot X_H \cdot (1 / Y_H - (1 - f_d)) \quad (c)$$

Etant donné qu'elle ne dépend que d'une seule inconnue, l'OUR du blanc définit la composition initiale des boues vieilles. D'après les équations (a), (b) et (c), tout jeu de paramètres n'est pas valide puisque S_S , X_S et FX_S doivent être positifs. Par exemple, μ doit être plus grand que b_H (équation a), ce qui est cohérent avec le fait que les bactéries sont supposées croître au moins en conditions saturantes en S_S . Des considérations physiques du même type peuvent être trouvées pour donner sens aux deux autres équations. Définir des conditions initiales caractérisant les boues primaires vieilles et les paramètres du modèle ne sont pas des actions indépendantes puisque la composition initiale des boues dépend aussi des

paramètres du modèle comme montré dans les équations (a), (b) et (c). En raison de ces interactions complexes entre les estimations, le processus d'optimisation doit être réalisé en une seule fois, ce qui est réalisable en utilisant la procédure décrite dans le paragraphe 2 du chapitre 4. La fonction objectif à minimiser est égale à la somme des carrés des données d'oxygène observées moins les données d'oxygène simulées.

2.2. Résultats des optimisations

Avec 282 valeurs d'oxygène, la fonction coût optimale (J) est égale à 0.136. Ce résultat montre une faible variance pour les données oxygène (déviations standard = 0.022 mg.L⁻¹) et suggère que le modèle est bon. Les résultats simulés sont présentés sur la Figure 5- 3. Les estimations et incertitudes des paramètres sont mentionnées dans le Tableau 5- 1.

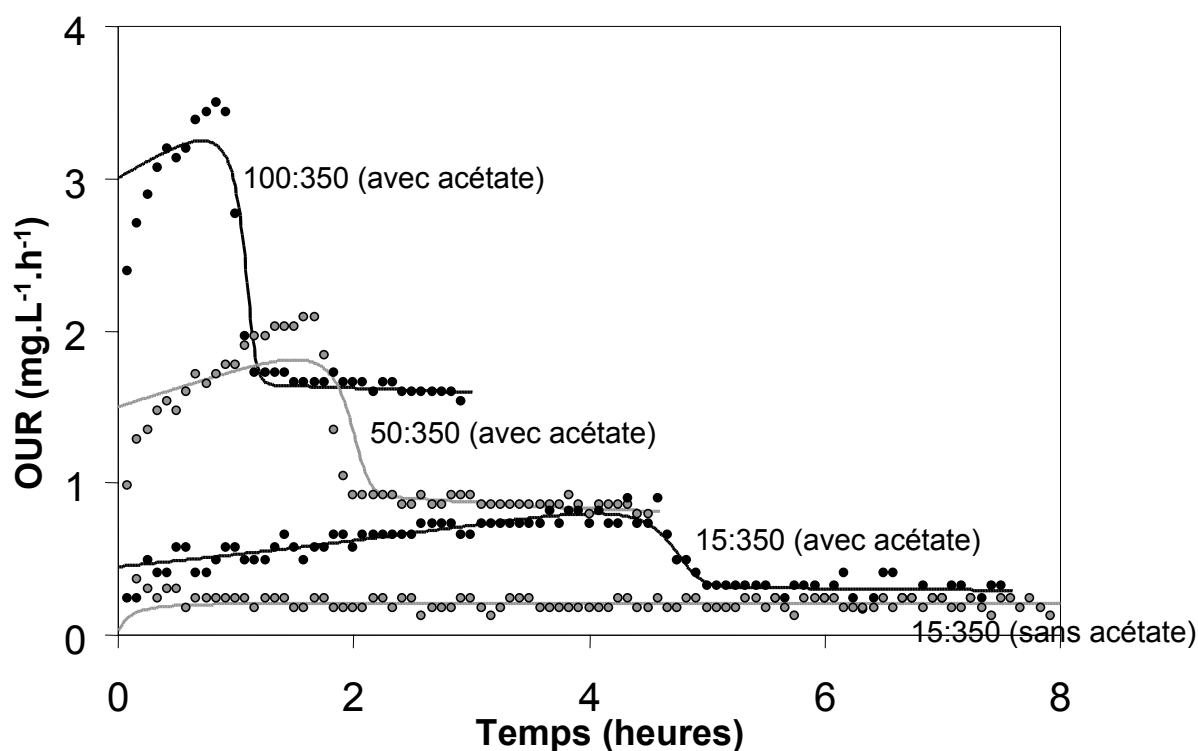


figure 5- 3 : Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM1

	Y_H	μ (h ⁻¹)	K_S (mg.L ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	k_H (mg.L ⁻¹ .h ⁻¹)	K_X	f_d	X_{H0} (mg.L ⁻¹)	J
Valeur estimée	0.635	0.307	0.01	0.145	0.234	0.002	0.240	58.6	0.136
Intervalle de confiance	±0.002	±0.006	Fixed	±0.003	±0.006	±0.001	±0.022	±1.1	-

Tableau 5- 1: Estimations et incertitudes des paramètres

Le rendement de croissance est bien défini dans ces expériences avec une valeur de 0.635 ± 0.002 qui est significativement plus faible que celle obtenue avec des méthodes graphiques précédemment décrites (de 0.69 à 0.75 pour nos différentes estimations graphiques et 0.67 pour Henze et al., 2000). Toutes les méthodes graphiques, celle proposée par Xu et Hasselblad (1996) ou celle proposée par Ekama et al. (1986) supposent que la ligne de base obtenue après la phase I peut être utilisée pour calculer l'excès de consommation d'oxygène due à l'acétate ajouté. Cependant, une fraction de l'OUR de base obtenue après l'ajout de l'acétate est dû à la croissance de la biomasse, et ne devrait donc pas être directement soustraite à l'intégrale de l'OUR pour le calcul du rendement de croissance.

L'optimisation réalisée avec ASM1 montre que ces erreurs entraînent des surestimations de 0.10 à 0.11. Il est fort probable que de telles surestimations du rendement de croissance par des méthodes graphiques ne soient pas spécifiques à l'acétate, c'est pourquoi une procédure d'estimation basée sur l'optimisation d'un modèle sera utilisée dans la suite de ce travail. Par conséquent, les rendements de croissance mentionnés dans la littérature pour l'acétate obtenus généralement par méthodes graphiques sont plus élevés que la valeur optimale obtenue ici (Xu et Hasselblad, 1996 ; Zigliio et al., 2000 ; Dircks et al., 1999). Les autres paramètres (μ , k_H , f_d) ont des valeurs similaires à celles rapportées dans la littérature (Henze et al., 2000), mais le coefficient de mortalité (b_H) s'élève à 3.5 j^{-1} , ce qui constitue une valeur très élevée par rapport à celles citées dans la littérature.

D'après ASM1, l'acétate (i.e. S_S) est directement utilisé pour la croissance bactérienne. Par conséquent, la consommation d'acétate, la consommation d'oxygène due à la croissance et la croissance sont proportionnelles et définissent le rendement de croissance. La montée de l'OUR observée durant la phase I, en conditions saturantes en S_S , devrait être proportionnelle à la croissance de la biomasse et la croissance de la respiration endogène après l'épuisement de l'acétate devrait aussi être proportionnelle à la croissance de la biomasse, avec un délai dû au recyclage de X_S . Nos expériences ne concordent pas avec de telles conclusions, et par conséquent ASM1 ne parvient pas à simuler les 2 croissances. De fortes valeurs de b_H sont nécessaires pour simuler la décroissance d'OUR durant la phase II, ce qui conduit à des valeurs irréalistes pour le taux de mortalité.

Deux processus peuvent être mentionnés pour expliquer ces différences :

- (i) un processus de stockage peut avoir lieu ce qui peut expliquer la consommation excédentaire durant la phase II

- (ii) La biomasse peut développer une adaptation progressive pour l'assimilation de l'acétate à un taux plus élevé, ce qui expliquerait un lent démarrage de l'OUR immédiatement après l'ajout d'acétate.

Plusieurs chercheurs (Van Loosdrecht et al., 1997 ; Carta et al., 2001 ; Dircks et al., 2001) ont montré que le stockage intracellulaire est un phénomène important dans les procédés de traitement des eaux, en particulier en ce qui concerne l'acétate, avec formation de PHA. L'IWA a récemment présenté une nouvelle version de ses modèles appelé ASM3 (Gujer et al., 1999) (voir chapitre 3) qui prend en compte le stockage intracellulaire de polymères par des bactéries hétérotrophes dans les procédés à boues activées ; nous allons tester ce modèle sur nos données expérimentales. Suivant les concepts utilisés dans ASM3, la décroissance de l'OUR après la phase de consommation rapide pourra être due à l'épuisement progressif des réserves cellulaires et non plus seulement à la mortalité bactérienne, ce qui pourrait permettre d'aboutir à un taux de mortalité plus réaliste après ajustement.

3. Modélisation de la biodégradation de l'acétate avec ASM3

Les simulations des expériences de biodégradation de l'acétate avec le modèle ASM3 sont présentées de manière détaillée dans la publication n°3 (reprise en annexe). Les principaux résultats de ces simulations sont présentés ci-dessous.

Dans ASM3 (Gujer et al., 1999) (voir description chapitre 2 paragraphe 2.3), le substrat rapidement dégradé (S_s) est tout d'abord transformé en produit intracellulaire de stockage (X_{STO}) puis assimilé dans la biomasse. Le rendement bactérien global est partagé entre un rendement de stockage et un rendement de croissance. La modélisation de la mortalité a été simplifiée par rapport à ASM1 puisque la respiration endogène remplace le recyclage des sous-produits de mortalité bactérienne.

3.1. Simplifications et hypothèses de fonctionnement du modèle

Quelques simulations nous ont permis de constater que X_{STO}/X_H est toujours plus faible que K_{STO} lors de nos expériences. C'est pourquoi, l'expression de la croissance proposée dans ASM3 a été simplifiée en négligeant X_{STO}/X_H devant K_{STO} . Le processus de croissance est exprimé de la façon suivante : croissance = $\mu^* \times X_{STO}$, où μ^* correspond à μ/K_{STO} de la version classique d'ASM3. Nous définissons de nouvelles relations asymptotiques pour cette version, appelée « ASM3z », pour définir les relations entre variables et OUR du blanc :

$$X_{STO} = \frac{b_H}{\mu^*} X_H \quad (a)$$

$$F_{XS} = \frac{b_{STO} + \mu^*/Y_H}{Y_{STO}(1-f_{SI})} \times \frac{b_H}{\mu^*} \times X_H \quad (b)$$

$$X_S = \frac{R_0}{1-R_0} K_X X_H \quad \text{avec} \quad R_0 = \frac{b_{STO} + \mu^*/Y_H}{k_H Y_{STO}(1-f_{SI})} \times \frac{b_H}{\mu^*} \quad (c)$$

$$S = \frac{R_1}{1-R_1} K_S \quad \text{avec} \quad R_1 = \frac{b_{STO} + \mu^*/Y_H}{k_{STO} k_H Y_{STO}} \times \frac{b_H}{\mu^*} \quad (d)$$

3.2. Position du problème

Le problème couramment rencontré lors de l'estimation de paramètres à partir de données expérimentales est le problème de sous-détermination. Ceci se produit lorsque l'information fournie par les expériences n'est pas assez précise pour estimer les paramètres ou lorsque les corrélations entre paramètres ne peuvent être résolues. Afin d'éviter ce travers, nous avons choisi de travailler au niveau de sous-problèmes mieux déterminés après une étude détaillée de corrélations des paramètres.

3.3. Corrélations des paramètres

Dans ASM3, le processus de consommation d'oxygène débute lors de la transformation de S_S en X_{STO} (stockage). Les expériences menées, consistant à ajouter du S_S (acétate), n'apporteront donc aucune information au sujet des processus ayant lieu avant le stockage. C'est pourquoi, les paramètres concernant l'hydrolyse (i.e. f_{SI} , k_H et K_X) sont fixés aux valeurs suggérées par Henze et al. (2000). Le paramètre f_{XI} est aussi fixé puisqu'il est fortement corrélé à b_H dans le terme de consommation d'oxygène mise en jeu lors du processus de mortalité. Une fois ces paramètres fixés, une optimisation est lancée afin d'obtenir une quantification des corrélations entre les autres paramètres. Comme le Tableau 5-2 le montre, le problème de sous-détermination n'est pas résolu.

	Y_H	μ^* (h ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	Y_{STO}	k_{STO} (h ⁻¹)	b_{STO} (h ⁻¹)	X_{H0} (mg.L ⁻¹)
Valeur optimale	0.678**	2.181	0.038	0.928	0.271	0.080**	90.3
Intervalle de confiance	∞^*	± 0.190	± 0.001	± 0.020	± 0.006	∞^*	± 2.5
Coefficients de corrélation							
	Y_H	μ^*	b_H	Y_{STO}	k_{STO}	b_{STO}	X_H
Y_H	1.0000	0.0012	0.0010	0.0010	0.0008	1.0000	-0.0009
μ^*		1.0000	0.8380	0.7681	0.6381	0.0016	-0.7318
b_H			1.0000	0.6556	0.9383	0.0013	-0.9651
Y_{STO}				1.0000	0.5540	0.0014	-0.5667
k_{STO}					1.0000	0.0010	-0.9782
b_{STO}						1.0000	-0.0011
X_H							1.0000

*Existe numériquement, mais a aucune signification, les intervalles de confiance pour Y_H and b_{STO} étaient ± 24 et ± 113 .

**Estimation numérique de Y_H et b_{STO} , mais sans aucune signification, Y_H et b_{STO} sont en effet indéterminés.

Tableau 5- 2 : valeurs des paramètres optimaux et coefficients de corrélation pour ASM3z avec les paramètres suivants fixés : $f_{SI}=0$, $f_{XI}=0.2$, $k_H=0.125h^{-1}$, $K_X=1$. $J=0.180$.

Les paramètres Y_H et b_{STO} sont très fortement corrélés (coefficient de corrélation = 1), ce qui provoque leur indétermination et implique que l'un des deux soit fixé. Par conséquent, b_{STO} est fixé à la valeur suggérée par Henze et al. (2000).

Une optimisation est réalisée en ôtant toute contrainte sur le paramètre k_H . La simulation est légèrement améliorée (Fonctionnelle coût = 0.171 et $k_H = 0.125h^{-1}$) mais elle ne modifie pas significativement les valeurs des paramètres.

Afin de compléter l'étude du modèle, un examen des paramètres précédemment fixés aux valeurs suggérées par Henze et al. (2000) a été mené. Cette étude montre que toute variation de leur valeur dans une échelle réaliste ne modifie pas significativement la valeur des paramètres bien définis. Cette dernière remarque confirme la robustesse du système d'optimisation mis en place.

3.4. Effet miroir du profil OUR et amélioration d'ASM3

Durant la phase I, la consommation de substrat se fait à conditions saturantes en substrat et induit donc un OUR constant selon ASM3. L'augmentation de l'OUR durant cette phase est due à la croissance bactérienne et à la respiration des composés de stockage (X_{STO}). Ces deux derniers processus étant d'ordre 1 par rapport à X_{STO} , le profil OUR a une forme exponentielle. La phase II de l'OUR présente aussi une forme exponentielle en raison de la décroissance de X_{STO} d'ordre 1. La constante de temps des 2 exponentielles est la même

$\left(\left[\frac{1-Y_H}{Y_H} \mu^* + b_{STO} \right]^{-1} \right)$, ce qui entraîne un effet miroir pour les formes exponentielles des

phases I et II lors des simulations. Cependant, cet effet n'apparaît pas sur les profils OUR tracés à partir des données observées lors des expériences.

Afin de gommer cet effet miroir, l'hypothèse suivante est formulée : la croissance d'OUR durant la phase I est due à une adaptation de la biomasse. X_{STO} peut être utilisée comme index de l'adaptation de la biomasse, pour éviter d'introduire une variable supplémentaire. La seule modification par rapport à ASM3z se situe au niveau de l'équation du stockage, celle-ci est

multipliée par le terme correctif suivant : $\frac{X_{STO}/X_H}{K_{STO} + X_{STO}/X_H}$. Cette modification permet une

nette amélioration des simulations comme illustré sur la figure 5- 4 et le Tableau 5- 3.

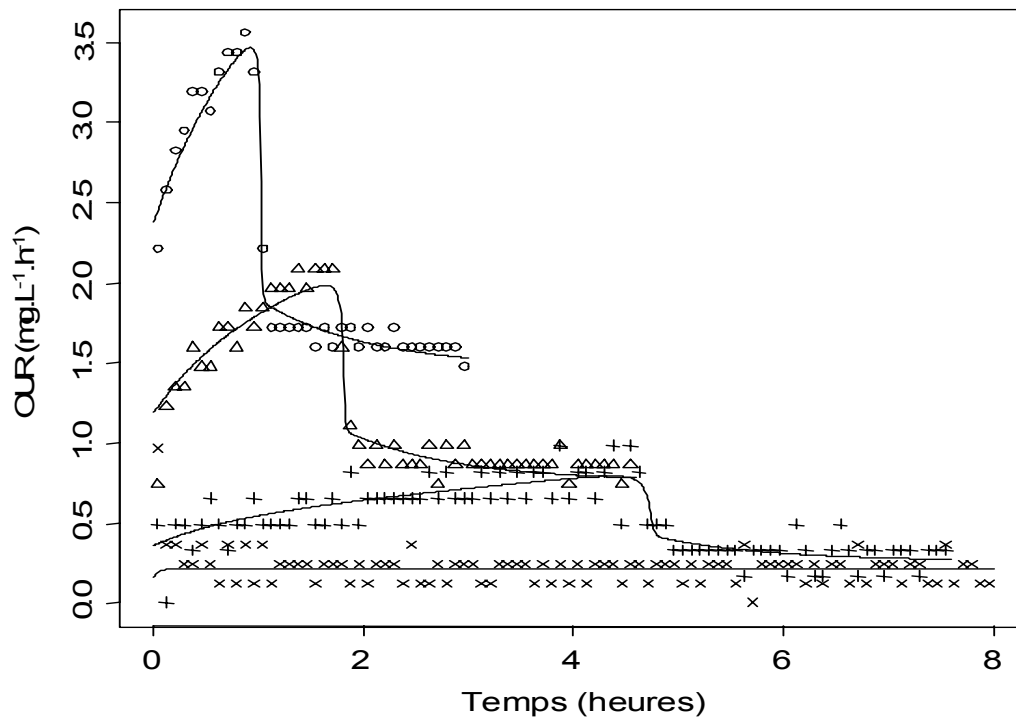


Figure 5- 4 : Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM3z modifié tel que décrit dans le texte

	Y_H	μ^* (h ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	k_H (h ⁻¹)	Y_{STO}	k_{STO} (h ⁻¹)	K_{STO}	X_{H0} (mg.l ⁻¹)
Valeur optimale	0.798	0.774	0.023	0.246	0.700	0.261	0.032	133
Intervalle de confiance	0.012	0.108	0.003	0.177	0.007	0.026	0.003	17

Tableau 5- 3 : Valeurs optimales des paramètres pour ASM3z avec adaptation. La fonction coût J=0.118

4. Conclusions sur la biodégradation de l'acétate

Nous avons développé une méthodologie permettant d'estimer les paramètres d'un modèle de biodégradation de la matière organique. La procédure de différentiation automatique permet d'obtenir facilement le gradient et le hessien de la fonction coût. Ce dernier donne accès aux estimations de variances et de corrélations des paramètres.

Nous avons utilisé une large gamme de rapports substrat sur biomasse afin d'élargir le domaine d'application du modèle à tout le continuum (eaux usées et eaux de rivière). Une hypothèse sur le fonctionnement de la boue nous a permis d'établir des relations entre les variables et simplifier le jeu des conditions initiales. De cette manière, la plupart des paramètres dans ASM1 ont été déterminés avec des intervalles de confiance très petits. Cependant, une valeur irréaliste du taux de mortalité bactérien est obtenue. Avec ASM3, cette forte valeur du taux de mortalité bactérien est gommée puisque la décroissance de l'OUR après la phase de consommation rapide est due à l'épuisement progressif des réserves intracellulaires et non plus seulement à la mortalité bactérienne. C'est pourquoi, nous avons utilisé ASM3 qui permet de prendre en compte un processus de stockage. De plus, des modifications ont été apportées à ASM3 afin d'améliorer la qualité des simulations. En effet, il existe toujours un couplage dans ASM3 puisque les processus par lesquels les produits de stockage sont stockés et utilisés mènent à la même exponentielle durant les phases I et II. C'est pourquoi, nous proposons une version d'ASM3 qui prend en compte une adaptation de la biomasse à l'acétate, amenant ainsi une augmentation de la consommation en oxygène durant la phase I.

5. Caractérisation de la biodégradabilité des eaux usées

Afin d'optimiser globalement la gestion des systèmes d'assainissement (i.e. réseau, STEP et rivière), les modèles de dégradation de la matière organique doivent fonctionner de façon correcte pour une large plage de valeurs de S_0/X_0 . En effet, ce rapport est faible dans une station d'épuration et fort dans le cas d'une rivière. Ce paragraphe s'attache à décrire les effets du rapport S_0/X_0 sur les réponses du modèle ASM3 en terme de fractionnement de la matière organique. Les résultats de ces expériences ainsi que leur modélisation sont décrits et discutés de manière complète dans la article 3 reprise en annexe.

5.1. Les effets d'un rapport S_0/X_0 variable

Plusieurs chercheurs (Liu et al. 1996, 1998 et 2000 ; Chudoba et al., 1992) notent que ce rapport a une influence sur la valeur du rendement de croissance bactérien : ce dernier est d'autant plus fort que le rapport S_0/X_0 est faible. Chudoba et al. (1990) donne à cette observation l'explication suivante : le flux de matière organique assimilable par les bactéries alimente deux processus différents i.e. le stockage de matériel intracellulaire et la croissance bactérienne ; l'intensité de ces 2 processus est fonction du rapport S_0/X_0 : pour les forts S_0/X_0 le processus de croissance est majoritaire alors que pour les faibles S_0/X_0 le processus de stockage est prépondérant. Sachant que la croissance bactérienne consomme plus d'énergie que le stockage intracellulaire, la conclusion que le rendement de croissance bactérien global est plus fort à faible S_0/X_0 et plus faible à fort S_0/X_0 devient alors évidente.

Dans cette partie, un prélèvement d'eau usée en amont et un en aval du réseau d'assainissement de Corbeil ont été réalisés pour être analysés. Pour chaque échantillon, 4 expériences (chacune caractérisée par un rapport S_0/X_0) de type Xu et Hasselblad (1996) ont été menées sur les eaux usées filtrées. La méthodologie décrite dans le chapitre précédent est utilisée pour caractériser la biodégradabilité des eaux usées filtrées. Elle permet de caler le modèle ASM3 sur une large plage de valeur de S_0/X_0 et aussi d'évaluer simultanément les processus de stockage et de croissance. Enfin, en plus des données d'oxygène acquises durant les expériences, des données de carbone réfractaire obtenues avec la méthode décrite dans l'article 1 sont utilisées dans le processus d'optimisation. Ceci permet de réduire la dimension du problème en introduisant des données supplémentaires concernant les conditions initiales.

5.2. Comparaison des cinétiques de dégradation de l'acétate et des eaux usées

L'acétate est généralement considéré comme le substrat le plus rapidement dégradable. Cependant, la figure 5- 5 montre que l'OUR initial est plus élevé dans le cas de l'eau usée que dans le cas de l'acétate (la même boue est utilisée comme inoculum). Plusieurs hypothèses peuvent expliquer cette dernière observation : les eaux usées semblent contenir des substrats qui sont plus rapidement dégradables que l'acétate, ce qui est en contradiction avec le fait que l'acétate soit utilisé pour déterminer le taux maximum d'assimilation des bactéries. Nous avons émis une autre hypothèse : la biomasse développe un mécanisme d'adaptation

(consommateur d'énergie) devant une quantité importante d'acétate. Celle-ci est discutée dans la publication n°3.

Dans ce qui suit, nous utilisons ASM3z sans adaptation de la biomasse (i.e. avec le terme correctif fixé à son maximum) car les bactéries présentes dans la boue primaire sont supposées être adaptées à l'eau usée.

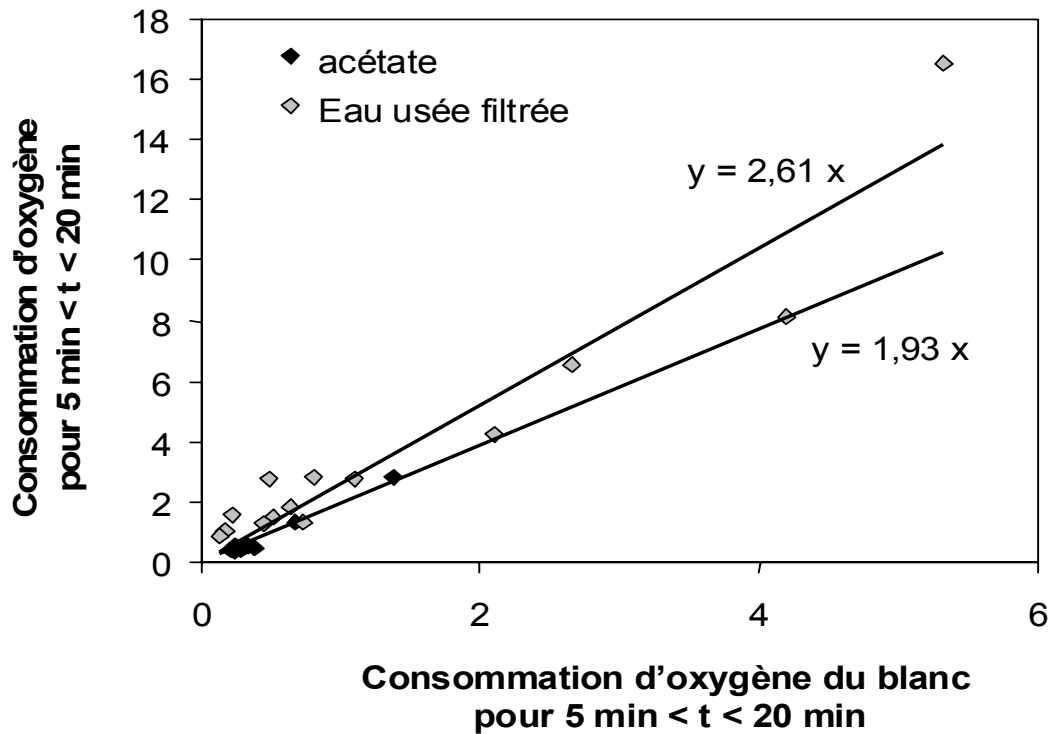


Figure 5- 5 : Comparaison des consommations relatives d'oxygène lors de la biodégradation de l'acétate et d'eaux usées

5.3. Résultats des optimisations

Tout d'abord, le jeu de paramètres standard proposé par Henze et al. (2000) est utilisé pour simuler les données d'oxygène obtenues lors des 4 expériences avec S_0/X_0 variable. Une première optimisation est effectuée en prenant en compte l'hypothèse de l'IWA que X_S est particulière. Etant donné que les expériences sont menées avec de l'eau usée filtrée, X_S est donc pris égal à 0. La figure 5- 6 montre que l'OUR simulé est trop rapide par rapport à l'OUR observé dans le cas de l'expérience avec le plus faible S_0/X_0 et que l'OUR simulé avec le plus fort S_0/X_0 ne décroît pas assez rapidement en tout début d'expérience pour être en accord avec l'OUR observé. La fonction coût est égale à 118.

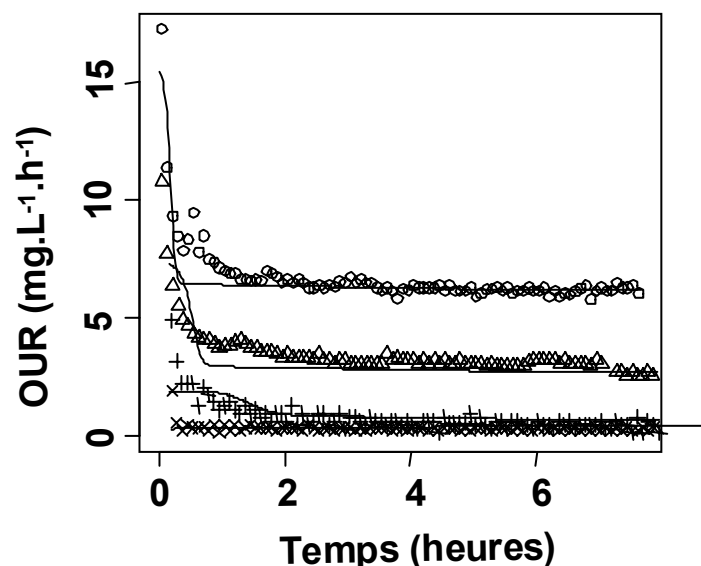


Figure 5- 6 Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM3 et les paramètres de Henze et al. (2000) fixés. S_S et X_H sont optimisés. Les dilutions (Veau usée :V boue :Veau minérale) sont 25 :100 :350 (cercles), 25 :50 :350 (triangles), 25 :15 :350 (+) et 0 :15 :350 (x).

Les résultats de cette optimisation suggèrent qu'un compartiment de matière organique lentement biodégradable permettrait d'obtenir une meilleure concordance entre les données simulées et les données mesurées. C'est pourquoi, nous supposons qu'une fraction de X_S peut être présente dans les eaux usées filtrées. Nous lançons une nouvelle optimisation avec cette nouvelle hypothèse. L'amélioration est faible (fonction coût = 106) et l'OUR simulé présente les mêmes profils que précédemment. Les erreurs sur les estimations de S_S et X_S sont fortes, ce qui signifie que la distribution de la DCO biodégradable en deux classes n'est pas bien définie.

Les paramètres établis par Koch et al. (2000) sont testés. La fonction coût n'est pas significativement améliorée mais ce nouveau jeu de paramètres permet une meilleure précision au niveau de la séparation entre S_S et X_S (la déviation standard est faible). Le jeu de paramètres proposé dans la article 2 et initialement établi pour de l'acétate (S_S) a été aussi testé. Aucune amélioration n'est cependant apportée en ce qui concerne la fiabilité de la distribution de la DCO biodégradable.

Des tests ont été, ensuite, réalisés en optimisant tous les paramètres excepté les fractions f_{XI} , f_{SI} et les rendements Y_{STO} et Y_H . Pour les trois jeux de paramètres, nous obtenons une bonne adéquation entre données observées et données simulées. Cependant, les données de DCO simulées sont très élevées pour le plus faible rapport S_0/X_0 (88 mg.L⁻¹). Or pour des expériences similaires la DCO a été mesurée à 10 mg.L⁻¹. Ceci implique que la fraction X_S qui est utilisée par la biomasse durant la phase de vieillissement ne doit pas être considérée

comme dissoute. Pour cette raison, une optimisation est effectuée avec S_S comme seul compartiment de matière organique dissoute. Les résultats ne sont pas très bons en particulier pour le S_0/X_0 fort (voir figure 5- 7).

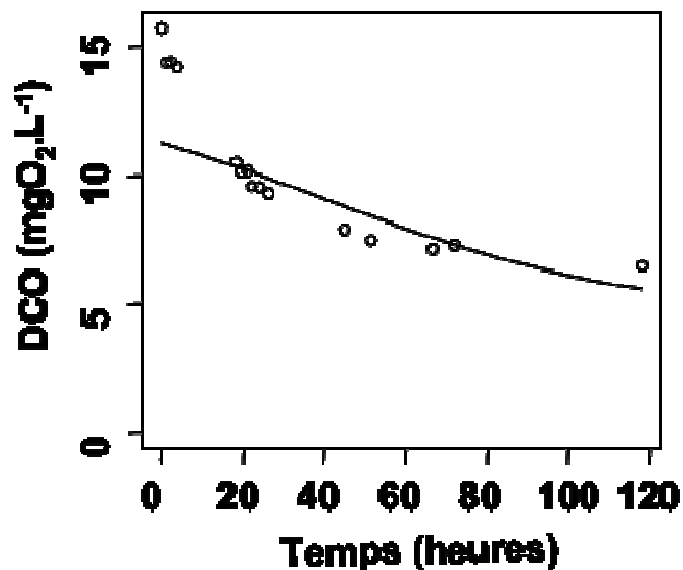


Figure 5- 7 Comparaison des données de DCO expérimentales et simulées avec ASM3 et les paramètres de Henze et al. (2000) optimisés sauf f_{SI} , f_{XL} , Y_{STO} et Y_H qui sont fixés. La dilution (Veau usée :V boue :Veau minérale) est 180 :2.1 :2300

Finalement, un modèle avec un compartiment supplémentaire de matière organique dissoute a été testé. Les valeurs des paramètres précédemment établies (article 2) sont gardées fixées et les valeurs des paramètres (notés k_{STO2} et K_{S2}) concernant un compartiment de matière organique supplémentaire (noté S_2) sont optimisées. S_2 sera stocké dans les bactéries avec une dynamique similaire à celle de S_S . Par conséquent, dans le nouveau modèle noté ASM3z_ S_2 , le stockage se fait à partir de S_S et S_2 . La dynamique de ce processus est pondérée par $S_S/(S_S+S_2)$ pour le stockage de S_S et par $S_2/(S_S+S_2)$ pour le stockage de S_2 . De cette manière le taux de croissance maximum des bactéries n'est pas augmenté. Ce modèle est testé avec les valeurs des paramètres établis dans la article 2 car d'une part ils ont été établis en utilisant le même type d'expérimentation, d'autre part les paramètres proposés sont caractéristiques des substrats rapidement biodégradables (acétate) et ajouter un compartiment plus lentement biodégradable semble raisonnable. Les résultats sont satisfaisants (figure 5- 8, figure 5- 9 et tableau 5- 4) et montrent que S_2 n'interfère que très faiblement avec S_S , permettant ainsi de pouvoir caractériser la biodégradabilité d'eaux usées sur une large échelle de rapports S_0/X_0 .

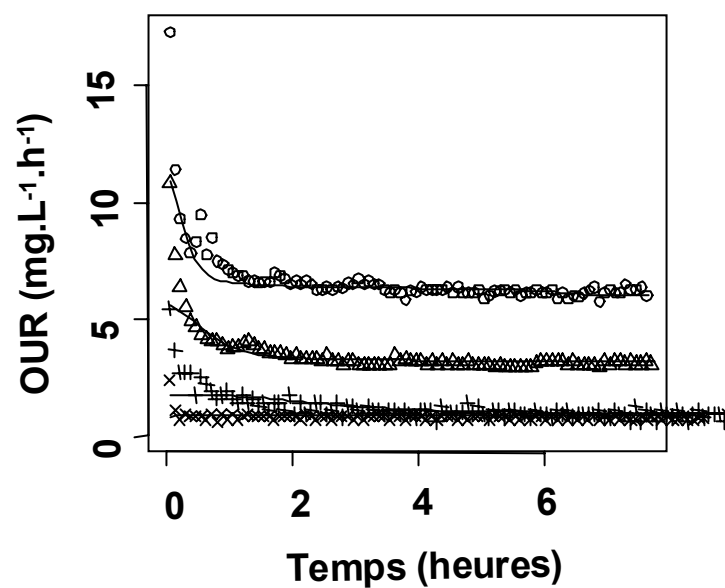


Figure 5- 8 Comparaison des cinétiques respirométriques expérimentales et simulées avec ASM3z_S2 et les paramètres de la article 2 fixés. Les dilutions (Veau usée :V boue :Veau minérale) sont 25 :100 :350 (cercles), 25 :50 :350 (triangles), 25 :15 :350 (+) et 0 :15 :350 ($\times$).

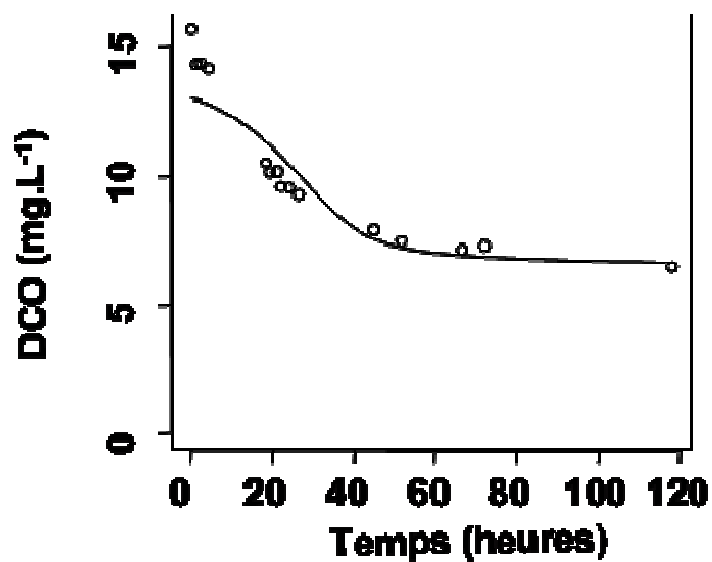


Figure 5- 9 Comparaison des données de DCO expérimentales et simulées avec ASM3z_S2 et les paramètres de la article 2 fixés. La dilution (Veau usée :V boue :Veau minérale) est 180 :2.1 :2300

k_{STO2}	K_{S2}	Echantillon #1			Echantillon #2			J
		S	S_2	X_H	S	S_2	X_H	
0.0056 ± 0.0002	0.01	80.8 $\pm$ 1.2	54.3 $\pm$ 1.0	550 $\pm$ 1	45.8 $\pm$ 1.3	26.1 $\pm$ 0.9	486 $\pm$ 1	45.4

Tableau 5- 4 Paramètres optimisés et variables initiales avec le modèle ASM3z_S2

5.4. Conclusions

Une méthodologie pour caractériser la biodégradabilité de la DCO dissoute dans les eaux usées a été mise en place dans ce travail. Le jeu de paramètres établi lors de la modélisation de la dégradation de l'acétate avec ASM3z est utilisé en ajoutant un compartiment plus lentement biodégradable de matière organique dissoute (noté S_2) dans le modèle devenu ASM3z_S2. Ce modèle est testé sur une large échelle de rapport S_0/X_0 en vue de l'utiliser ensuite sur les eaux du continuum (réseau d'assainissement / station d'épuration / milieu naturel récepteur).

6. Caractérisation de la biodégradabilité des eaux usées sur le continuum

La méthodologie développée précédemment pour déterminer les différentes classes de biodégradabilité de la matière organique dissoute est appliquée à une série d'échantillons d'eaux usées, d'eaux traitées et d'eaux de rivière d'un même bassin versant.

Les résultats de ces expériences ainsi que leur modélisation sont décrits et discutés de manière complète dans la article 4 reprise en annexe.

6.1. Description du site et de l'échantillonnage

Les échantillons proviennent du bassin versant du Grand Morin, affluent de la Marne, et de la Marne elle-même. Ils ont été collectés en entrée et sortie de différentes STEP (dont les caractéristiques figurent dans le tableau 5- 5), dans le Grand Morin et dans la Marne. Les expériences ont été lancées le plus rapidement possible après collecte (i.e. une heure) pour éviter la dégradation de la matière organique avant les expérimentations.

Station	Type de traitement	Type de réseau	Coefficient de charge
Bouleurs	Boues activées, aération prolongée, 1000 EH en mauvais fonctionnement au moment de l'échantillonnage	Réseau séparatif	0.75
Aulnoy	Lagunage naturel, 180 EH	Réseau mixte	0.45
Couilly	Boues activées, aération prolongée, 15000 EH	Réseau mixte	0.53
Guérard	Boues activées, aération prolongée, 1000 EH	Réseau séparatif	0.41

Tableau 5- 5 Stations d'épuration étudiées dans le bassin versant du Grand Morin

La même boue est utilisée pour toute la série d'essais, elle est caractérisée par la variable X_H (i.e. la quantité de biomasse qu'elle contient).

6.2. Optimisation avec le jeu de paramètres défini dans la article 3

Les écarts type estimés pour les diverses variables sont faibles (voir tableau 5- 6), ce qui signifie que les variables optimales sont évaluées avec précision sous l'hypothèse du jeu de paramètres qui est utilisé. Cependant, les graphes de résultats sont peu satisfaisants (voir figure 5- 10). D'une part, les fortes consommations en oxygène initiales sont mal simulées par le modèle et d'autre part, certaines simulations à faible teneur en DCO donnent des OUR croissants en début d'expérience.

	S	S2	Xh	F
Couilly in	51.1±0.7	10.5±0.7	163.3±0.9	0.44
Aulnoy in	148.3±1.2	41±1.2	-id-	4.29
Couilly out	2.50±0.11	7.87±0.15	-id-	0.06
Aulnoy out	6.44±0.21	16.85±0.23	-id-	0.08
R5	1.01±0.09	0.40±0.09	-id-	0.10
R6	1.00±0.13	0.66±0.13	-id-	0.03
R7	0	1.70±0.04	-id-	1.40
R8	0	2.07±0.04	-id-	0.91
Blanc de boue				2.0
Bouleurs in	124.1±0.9	23.6±0.9	355±3.3	25.7
Guérard in	82.4±1.0	23.8±1.0	-id-	5.0
Bouleurs out	35.3±0.9	13.4±0.9	-id-	6.3
Guérard out	2.7±0.3	11.1±0.3	-id-	0.2
R1	2.10±0.13	0.55±0.10	-id-	1.7
R10	1.77±0.11	0.54±0.08	-id-	2.8
R13	0	1.96±0.07	-id-	9.2
Blanc de boue				5.8

Tableau 5- 6 Résultats d'optimisation obtenus avec le jeu de paramètres défini dans la article 3

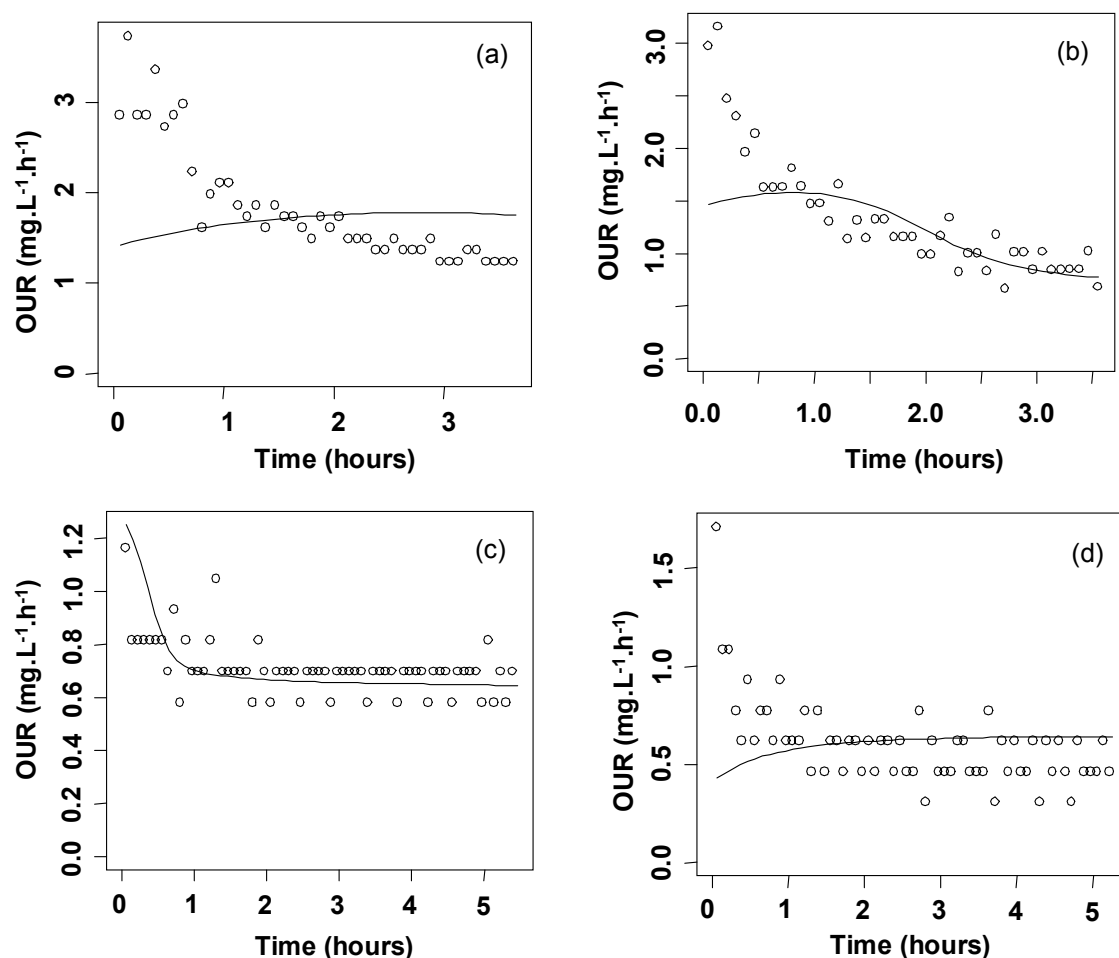


Figure 5- 10 Exemples de résultats de simulations obtenues avec le jeu de paramètres de départ, pour quelques échantillons caractéristiques. (a) Eaux usées traitées en entrée de la station d'Aulnoy, (b) eaux usées en entrée de la station de Couilly, (c) eaux de rivière, station R5, (d) eaux de rivière, station R8.

6.3. Discussion

Les paramètres caractérisant le compartiment lentement dégradable (S_2) ont été définis dans la article 3 et à la différence des paramètres caractérisant le compartiment rapidement dégradable (S), ils ont été obtenus à partir d'un nombre d'échantillons d'eaux usées dont on ignore la représentativité. Nous avons donc procédé à de nouvelles évaluations des caractérisations des eaux du bassin du Grand Morin en modifiant les valeurs des paramètres k_{STO2} . En revanche, l'étude de l'impact de la variabilité de K_{S2} n'a pas été effectuée puisque la valeur de K_{S2} est toujours très faible comparée à celle de S_2 . Les résultats rassemblés sur la figure 5- 11 montrent que pour de faibles valeurs de k_{STO2} le partage entre S et S_2 est bien défini et indépendant de k_{STO2} . De plus, l'information concernant la dynamique réelle de

dégradation de cette fraction est très faible dans les essais, ce qui explique que k_{STO2} soit très peu sensible dès lorsqu'il est assez faible.

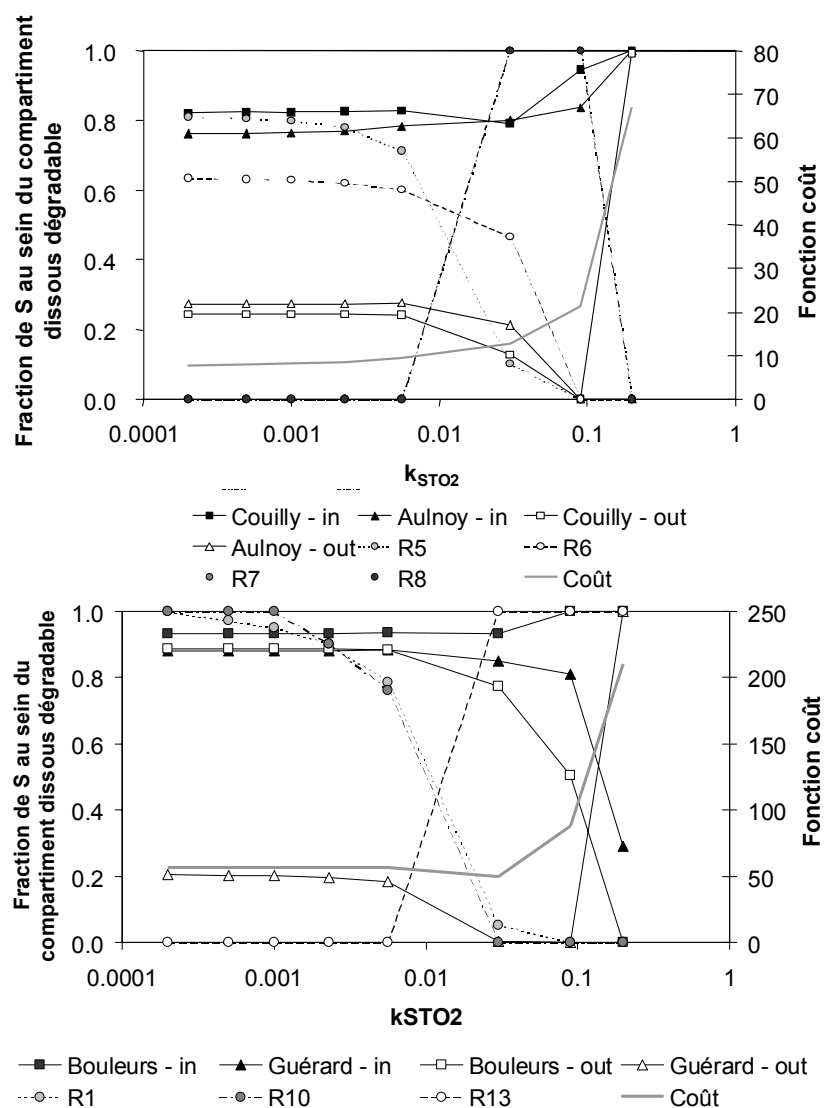


Figure 5- 11 Evolution du fractionnement entre S et S_2 en fonction de la valeur choisie pour k_{STO2} . La valeur k_{STO} est de $0,261 \text{ h}^{-1}$ dans ces simulations

En comparant les consommations en oxygène en fin d'expérimentation, nous avons mis en évidence un problème d'inhomogénéité de la boue entre les divers essais. En effet, deux blancs réalisés à quelques heures d'intervalle présentent une consommation en oxygène différente de 25%. Afin d'évaluer l'importance de ce problème, le facteur de dilution de la boue est testé à différentes valeurs pour les expériences notées R7 et R8. Les résultats (voir tableau 5- 7) montrent que le fractionnement entre S et S_2 est très sensible à la quantité de boue présente dans les essais.

Des simulations supplémentaires ont été entreprises en optimisant les paramètres de la boue pour chaque expérimentation, c'est à dire que toutes les dilutions sont supposées incertaines. Les résultats sont rassemblés dans le Tableau 5- 8.

Pour certains échantillons, le modèle ne parvient pas à simuler la valeur élevée de consommation en oxygène initial. La respiration maximale est atteinte pour « Aulnoy in » et la valeur de k_{STO} est trop faible, ce qui fait que X_H est optimisé à une valeur très élevée pour compenser. A l'inverse, pour les échantillons de rivière, on a des quantités de biomasse optimisées à des valeurs plus faibles que lorsque le taux de dilution était fixé. Le modèle et ses paramètres ne parviennent pas à simuler les fortes consommations en oxygène initiales et compense sur l'optimisation de la valeur de X_H .

	Standard		Dilu 38.5		Dilu 45	
	S	S2	S	S2	S	S2
Couilly_in	51.1	10.5	47.8	13.9	49.5	12.2
Aulnoy_in	148.3	41	136.9	52.5	142.5	46
Couilly_out	2.50	7.87	1.78	8.60	2.14	8.23
Aulnoy_out	6.44	16.85	5.26	18.13	5.84	17.6
R5	1.01	0.40	0.31	1.07	0.72	0.67
R6	1.00	0.66	0.19	1.47	0.60	1.05
R7	0	1.70	0.32	1.34	0	1.68
R8	0	2.07	0.88	1.17	0	1.85

Tableau 5- 7 : Optimisation pour différentes dilutions : Dilu 38.5 = 38.5 ml au lieu de 50 pour les essais R7 et R8 dans les OUR finaux (quasi stabilités) sont plus faibles qu'attendus. Le rapport entre l'OUR final mesuré et l'OUR attendu en fonction de l'OUR du blanc de la dilution de 50 ml est d'environ 38.5/50. Dilu 45, le taux de dilution de R7 et R8 a été porté à 45 ml.

	S	S2	Xh	F
Couilly in	44.7	16.9	195	0.35
Aulnoy in	74.7	115	317	2.30
Couilly out	3.64	6.73	138	0.05
Aulnoy out	5.45	17.9	178	0.08
R5	0.75	0.64	171	0.01
R6	1.06	0.60	162	0.03
R7	0.68	1.00	131	0.06
R8	1.36	0.70	128	0.01
Blanc de boue				
Bouleurs in	83.1+4.4	64.6+4.4	613	11.5
Guérard in	53.0+1.6	53.1+1.6	546	0.79
Bouleurs out	49.0+0.2	6.6+0.1	189	5.36
Guérard out	5.6+0.2	8.3+0.2	257	0.06
R1	1.27	1.32	406	0.01
R10	1.82	0.39	409	0.05
R13	0.97	0.96	264	0.05
Blanc de boue				

Tableau 5- 8 Fractionnements obtenus en considérant qu'une boue d'activité indépendante de celle des autres est utilisée pour chaque échantillon

Etant donnée que les consommations en oxygène sont beaucoup trop faibles en début d'essai lors de certaines simulations, la représentativité de l'acétate comme modèle des matières organiques rapidement dégradables doit être remise en cause. Des optimisations des

paramètres liés à S (K_S et k_{STO}) sont, par conséquent, effectués en plus de l'optimisation des valeurs initiales S, S2, O_2 et X_H . Les valeurs optimales de k_{STO} et K_S sont $0.49 \pm 0.02 \text{ j}^{-1}$ et $6.1 \pm 0.4 \text{ mg.L}^{-1}$

Les simulations (figure 5- 12) et les valeurs des fonctions coût sont satisfaisantes lorsque les quantités de boues sont considérées indépendamment les unes des autres.

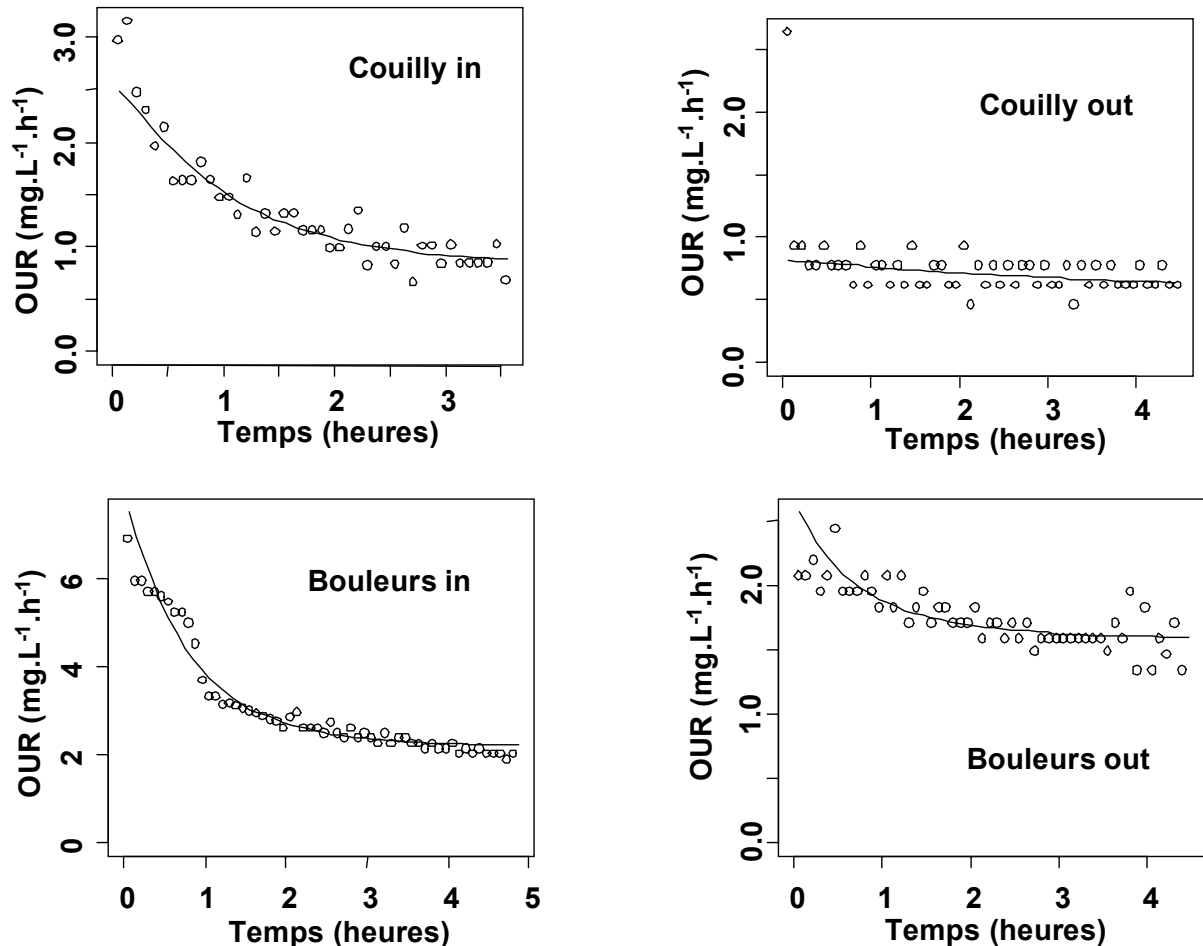


Figure 5- 12 : OUR simulées pour les eaux d'entrée et de sortie des stations de Couilly et Bouleurs après ajustement des paramètres liés à S. Dans ces simulations, les quantités de boues sont considérées comme indépendantes pour chaque essai, ce qui correspond à une quantité de biomasse initiale à caler également, comme S et S2.

Rôle de la donnée CODR

Des tests ont été réalisés en modifiant les valeurs mesurées du CODR afin de mesurer l'importance de ces données sur les estimations de S et S2. Les résultats (figure 5- 13) montrent que S peut être évalué en l'absence de mesure de CODR dès lors qu'on peut observer un palier pour la valeur de S. Le palier a été obtenu pour toutes les simulations..

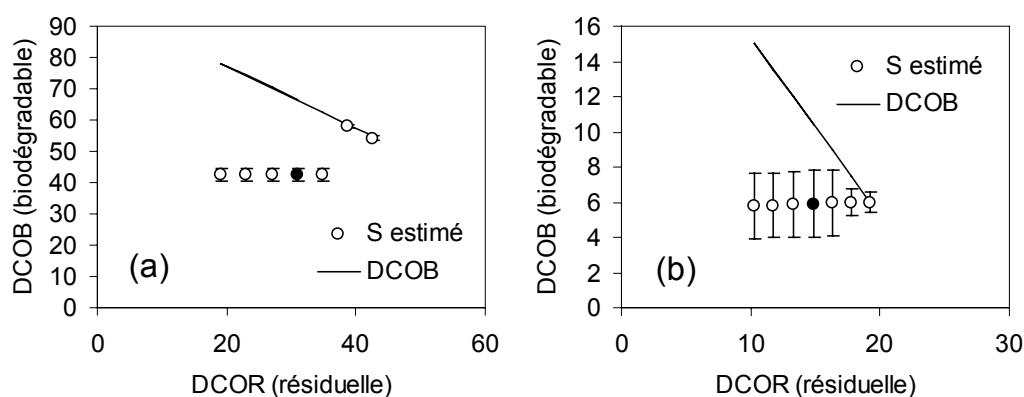


Figure 5- 13 : Propagation des erreurs liées à la DCOR. Illustration à partir de données de la station de Couilly en entrée (a) et sortie (b). La ligne de pente -1 donne la valeur maximale possible pour la DCOB (soit DCO - DCOR).

6.4. Conclusions

L'utilisation de notre protocole sur tout le continuum montre certaines limites. Idéalement et pour répondre aux besoins de gestion intégrée des systèmes d'assainissement, un protocole homogène i.e. utilisant la même méthodologie pour caractériser les eaux usées, eaux traitées et eaux de rivière est indispensable pour caractériser la matière organique du continuum. Nous avons démontré, au cours de ce travail, la nécessité d'utiliser ASM3 et de le complexifier en ajoutant un compartiment de matière organique (noté S₂) pour simuler la biodégradation des eaux usées. De plus, afin d'obtenir des résultats convenables en terme de simulation, il a été nécessaire de recalibrer les paramètres relatifs au compartiment de matière organique rapidement biodégradable (noté S_s) initialement calés à partir de l'acétate comme substrat. Cependant, les résultats sont très dépendants d'une bonne évaluation de la quantité de biomasse injectée. Au cours de ce travail l'activité de la population bactérienne n'a pas été reproductible d'un échantillon à un autre. Etant donné que les caractéristiques de biodégradabilité sont fonction de la matière organique elle-même et aussi de la biomasse qui la dégrade, il est par conséquent difficile d'obtenir des résultats homogènes et comparables d'un essai à un autre avec une biomasse dont les propriétés physiologiques sont mal contrôlées.

En optimisant la quantité de biomasse dans chaque essai, des résultats satisfaisants sont obtenus en terme de simulation. Ce type d'optimisation est classiquement rencontré dans la littérature pourtant il ne permet pas d'obtenir des résultats comparables en terme de caractéristiques de biodégradabilité pour divers échantillons.

Pour pouvoir effectuer ce type de comparaison, il est nécessaire de procéder à une étape préliminaire de calibration de la biomasse, avant d'appliquer le protocole utilisé dans ce travail.

Chapitre 6 : CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

D'un point de vue qualité des eaux, la gestion intégrée du système d'assainissement (réseau d'assainissement / station d'épuration / milieu naturel récepteur) permet d'optimiser le traitement des effluents. En effet, connaître la qualité des eaux sortant du réseau c'est connaître la qualité des eaux entrant dans la station d'épuration et c'est indispensable à la détermination des filières de traitement ainsi qu'à leur dimensionnement ; de même connaître les objectifs de qualité du milieu récepteur permet de définir des normes de rejet en sortie de station d'épuration, ce qui conditionne les choix des types d'ouvrage d'assainissement à mettre en place en amont. Les mécanismes de la biodégradation sont globalement les mêmes dans les différents sous-systèmes, cependant, les échelles de temps et les concentrations y sont très différentes et les méthodes de caractérisation de la matière organique couramment utilisées sont généralement adaptées à un seul sous-système. Or, les variables utilisées pour caractériser les matières organiques ne sont pas définies d'une manière absolue, une variable telle que "le rapidement dégradable" est typiquement définie en fonction de l'échelle de temps de l'expérimentation (qui peut être proche de celle du fonctionnement du sous-système considéré). Ceci ne permet pas d'obtenir des données compatibles entre les différents sous-systèmes.

Ce travail est une contribution à la mise au point d'un outil de caractérisation de la biodégradabilité de la matière organique applicable sur tout le système d'assainissement dans le but de répondre aux besoins de gestion intégrée de la pollution domestique urbaine.

Tout d'abord, l'acétate, substrat rapidement biodégradable, a été utilisé lors d'essais respirométriques de type Xu et Hasselblad (1996). Une méthode d'optimisation, basée sur la théorie du contrôle optimal, nous a permis de combiner de façon optimale modèle et résultats des mesures respirométriques. De plus, une hypothèse concernant le fonctionnement de la boue qui est utilisée dans les essais, a été émise. En effet, après deux jours de vieillissement sous aération et agitation, l'OUR de la boue reste constant, ce qui signifie que la boue atteint un état d'équilibre. L'hydrolyse d'un pool de matière organique lentement biodégradable issue de la matière organique présente dans la boue primaire a été introduite pour définir un état stationnaire non nul. L'hypothèse d'équilibre du système définit des relations entre conditions initiales et paramètres, et réduit, la dimension du problème à optimiser.

ASM1 a été testé avec cette méthodologie puis ce modèle a été écarté tout particulièrement en raison d'une valeur du taux de mortalité bactérienne très élevée. Ensuite, le choix du modèle ASM3 en remplacement d'ASM1 s'explique par l'introduction du processus de stockage intracellulaire qui est un phénomène important dans les procédés de traitement des eaux, par exemple lors de la biodégradation de l'acétate de nombreux scientifiques (Van Loosdrecht et

al., 1997 ; Carta et al., 2001 ; Dircks et al., 2001) ont mis en évidence la formation de composés de stockage tels que les polyhydroxyalkanoates (PHA). Avec ASM3, la valeur du taux de mortalité bactérien est plus réaliste que celle obtenue avec ASM1 étant donné que la décroissance de l'OUR après la phase de consommation rapide est due à l'épuisement progressif des réserves intracellulaires et non plus seulement à la mortalité bactérienne.

Ce travail nous a permis de caractériser la biodégradabilité du compartiment de matière organique directement assimilable par les bactéries et de caler une version adaptée d'ASM3 appelée ASM3z. ASM3z apporte une nette amélioration par rapport à ASM3 d'un point de vue qualité des simulations grâce à l'introduction d'une hypothèse d'adaptation de la biomasse en début d'expérience. Ce terme d'adaptation est rendu nécessaire par le fait que les bactéries utilisées n'étaient pas adaptées à l'acétate. Adapter la biomasse à ce substrat aurait sans doute permis d'éviter d'ajouter ce terme mais aurait modifié significativement la population mixte.

Le passage de caractérisation d'un substrat simple comme l'acétate à une eau usée présentant plusieurs classes de biodégradabilité a nécessité d'étoffer la méthodologie en y intégrant la méthode de Servais et al. (1995). Celle-ci donne accès à la fraction biodégradable des eaux usées pour de plus longues échelles de temps (CODB), elle a été appliquée avec succès sur des eaux de rivière et des eaux du réseau d'assainissement. Le protocole expérimental a, cependant, été modifié et validé : au lieu de conditions aérobies classiquement utilisées, l'incubation est réalisée en conditions anoxiques (ajout d'un excès de nitrates dans les réacteurs). Ce nouveau protocole permet de suivre un grand nombre de réacteurs en parallèle en raison de la facilité de mise en place de la procédure expérimentale et évite les inconvénients engendrés par le bullage (utilisation d'acide sulfochromique pour traiter l'air). Ainsi nous avons un outil mathématique permettant de combiner les résultats des mesures effectuées à l'aide des deux méthodes précédemment décrites.

Ensuite, nous avons validé cette méthodologie sur une large plage de conditions opératoires i.e. nous avons testé la robustesse du modèle sur une large plage de rapport substrat sur biomasse. En effet, la concentration en biomasse et en substrat varie beaucoup sur tout le continuum et par conséquent la dynamique de biodégradation est différente selon le milieu (station d'épuration ou rivière). Cette étape de validation nous a finalement conduit à utiliser ASM3z modifié par l'ajout d'un compartiment de matière organique dissoute (noté S2) plus lentement biodégradable que S_s et conservant, toutefois, une dynamique similaire à celle de S_s. L'introduction de S2 permet de tirer parti de la donnée de CODB.

Enfin, ce modèle a été utilisé pour fractionner des eaux du continuum lors d'une seule et même optimisation, afin d'obtenir un jeu de paramètres homogène. Nous avons montré que forcer une biomasse homogène dans toutes les expérimentations donne de moins bons résultats d'optimisation que laisser la biomasse libre (variable calée) pour chaque expérience. Ceci est particulièrement sensible pour les plus faibles concentrations de COD (rivière) où le signal se distingue faiblement du blanc. Il est donc très important de parvenir à une excellente homogénéisation de la biomasse utilisée et à une très bonne évaluation des blancs. De fait, Il reste à mettre au point un test de calibration de la biomasse avant d'appliquer la méthodologie développée dans ce travail. Comme nous l'avons fait au tout début de ce travail pour valider la reproductibilité de l'activité de la boue, le test en question pourrait être constitué d'un suivi respirométrique de la boue à différentes dilutions. Ces essais avaient montré une très bonne reproductibilité avec un écart-type de pentes inférieur à 5%. Une autre possibilité consiste à utiliser des boues provenant d'une culture stabilisée, cette dernière option alourdit cependant le protocole expérimental. Ceci montre que ce travail est tout à fait applicable sur le continuum à condition de prendre bien soin de valider l'activité de la biomasse lors de tests préliminaires.

Pour les eaux plus chargées, la procédure d'optimisation, si on laisse la biomasse libre, tend à améliorer l'ajustement en modifiant, parfois de manière très forte, la quantité de biomasse initiale. Ceci semble d'autant plus important que la quantité de COD introduite est élevée. Cette remarque traduit encore une imperfection du modèle, qui a été néanmoins nettement amélioré par rapport aux versions initialement utilisées. Un problème vient aussi du choix de la méthode de Xu et Hasselblad (qui présentait des avantages, par ailleurs, en particulier de pouvoir travailler avec des concentrations faibles en COD) qui ne permet pas d'atteindre des COD très forts. Il apparaît donc nécessaire de mettre en place un protocole différent pour les fortes concentrations en COD. Un système de réaération automatisé, lors d'expérimentations avec une forte quantité de substrat rapidement biodégradable, permettrait de suivre le taux de consommation en oxygène des bactéries. Ce nouveau protocole permettra aussi de faire varier le ratio S/X en faisant varier non seulement la quantité de biomasse initiale comme cela a été effectué dans ce travail mais aussi la quantité de substrat rapidement biodégradable. Ce dernier point améliorera l'optimisation des valeurs des paramètres du modèle dans le sens où les conditions opératoires sont plus proches de la réalité.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Anderson, A. J. and Dawes, E. A. (1990) Occurrence, metabolism, metabolic role and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbial. Rev.* **54**, 450-472.

Avcioglu E., Ohron D. and Sözen S. (1998). A new method for the assessment of heterotrophic endogenous respiration rate under aerobic and anoxic conditions. *Water Science and Technology*, **38**(8-9):95-103.

Azam F., Fenchel T., Field J. G. Gray J. S. Meyer-Reil L. A. and Thingstad F. (1983). The ecological role of water column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* (10), 257-263.

Barillier A. and Garnier J. (1993). Influence of temperature and substrate concentration on bacterial growth yield in Seine river water batch cultures. *Appl. Environ. Microbiol.* (33), 1225-1229.

Bastviken D., Ejlerstsson J. and Tranvik L. (2001). Similar bacterial growth on dissolved organic matter in anoxic and oxic lake water. *Aquat. Microb. Ecol.*, **24**, 41-49.

Bianchi M. and Wambeke F. V. (1989). Les réseaux planctoniques ou la base de la production océanique. In *Micro-organismes dans les écosystèmes aquatiques*, p. 65-100. Masson.

Billen G., Dessery S., Lancelot C. and Meybeck M. (1989). Seasonal and interannual variations of nitrogen diagenesis in the sediments of a recently impounded basin, Biogeochemistry, **8**, 73-100.

Billen G. and Servais P. (1989). Modélisation des processus de dégradation bactérienne de la matière organique en milieu aquatique. In *Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques*, p. 219-245. Masson.

Billen G., Servais P., Ventresque C. and Bouillot P. (1992). Functioning of biological filters used in drinking water treatment : the CHABROL model, *Aqua*, **41**, 231-241.

Billen G., Garnier J. and Hanset, P. (1994). Modelling phytoplankton development in whole drainage networks : The RIVERSTRAHLER model applied to the Seine river system. *Hydrobiologia*, **289**, 119-137.

Bjerre H.L., Hvitved-Jacobsen T., Teichgräber B. and Te Heesen D. (1995). Experimental procedures characterizing transformations of wastewater organic matter in the Emscher river, Germany, *Water Science and Technology*, **31**(7), 201-212.

Bjerre H.L., Hvitved-Jacobsen T., Teichgräber B. and Schlegel S. (1998). Modelling of aerobic wastewater transformations under sewer conditions in the Emscher river, Germany. *Water Environment Research*. **70**(6), 1151-1160.

Bortone G., Cech J.S., Germirli F., Bianchi R. and Tilche A. (1993). Experimental approaches for the characterisation of a nitrification/denitrification process on industrial wastewater. 1st Int. Spec. Conf. On Microorganisms in Act. Sludge and Biofilm, sept 27-28, Paris, 129-136.

Brown L.C. and Barnwell Jr. (1987). The enhanced stream water quality models QUAL2E and QUAL2E-UNCAS : documentation and user manual. EPA/600/3-87/007.

Bujon G. (1988). Prévision des débits et des flux polluants transités par les réseaux d'égouts par temps de pluie. Le modèle FLUPOL. *La Houille Blanche*, **1**, 11-23.

Bujon G. and Herremans L. (1990). FLUPOL : Modèle de prévision des débits et des flux polluants en réseau d'assainissement par temps de pluie. Calage et validation. *La Houille Blanche*, **2**, 123-137.

Burdige D.J., 1991. The kinetics of organic matter mineralization in anoxic marine sediments. *Journal of Marine Research*, **49**:727-761.

Byrd R.H., Lu P., Nocedal J. and Zhu C., 1995, A limited memory algorithm for bound constrained optimization, *SIAM J. Scientific Computing* **16**(5):1190-1208.

Carta, F., Beun, J.J., Van Loosdrecht, M.C. and Heijnen, J.J. (2001). Simultaneous storage and degradation of PHB and glycogen in activated sludge cultures. *Water Research*, **35**(11):2693-2701.

Carucci A., Dionisi D., Majone M., Rolle E. and Smurra P. (2001). Aerobic storage by activated sludge on real wastewater. *Wat. Res.*, **35**(16), 3833-3844.

Chahine W., Kauark-Leite L. and Teillot J.-P. (1994). Contribution du logiciel MOUSETRAP à la conception et au dimensionnement des systèmes de maîtrise de la pollution par temps de pluie. *TSM*, **12**, 733-739.

Chudoba P., Capdeville B. and Chudoba J. (1992). Explanation of biological meaning of the S0/X0 ratio in batch cultivation. *Wat. Sci. Tech.*, **26**(3-4), 743-751.

Crabtree R.W., Ashley R. and Gent R. (1995). MOUSETRAP : Modelling of Real Sewer Sediment Characteristics and Attached Pollutants. *Wat. Sci. Tech.*, **31**(7), 43-50.

Cole J.J. and Pace M.L. (1995). Bacterial secondary production in oxic and anoxic freshwaters. *Limnol. Oceanogr.* **40**, 1019-1027.

Cotner J. B. and Wetzel R. G. (1992). Uptake of dissolved inorganic and organic phosphorus compounds by phytoplankton and bacterioplankton. *Limnol. Oceanogr.* **37**(2), 232-243.

Daigger G.T. and Grady C.P.L. jr. (1982). The dynamics of microbial growth on soluble substrates. A unifying theory. *Wat. Res.*, **16**, 365-382.

Dircks, K., Pind, P. F., Mosbaek, H. and Henze M. (1999) Yield determination by respirometry – The possible influence of storage under aerobic conditions in activated sludge. *Water SA*, **25** (1), 69-74.

Dircks K., Henze M., Van Loosdrecht M.C.M., Mosbaek H. and Aspegren H. (2001). Storage and degradation of poly- -hydroxybutyrate in activated sludge under aerobic conditions. *Water Research*, **35**(9):2277-2285.

Dochain D., Vanrollenghem P.A. and Van Daele M., 1995. Structural identifiability of biokinetic models of activated sludge respiration. *Water Research*, **29**(11):2571-2578.

Dold P.L., Ekama G.A. and Marais G.v.R. and Matsuo T. (1980). A general model for the activated sludge process. *Prog. Wat. Tech.* **12**, 47-77.

Ekama G. A., Dold P. L. and Marais G.v.R. (1986). Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.* **18**, 91-114.

Even S., Poulin M., Garnier J., Billen G., Servais P., Chesterikoff A. and Coste M. (1998). River ecosystem modelling : application of the PROSE model to the Seine river (France). *Hydrobiologia* **373**, 27-37.

Even S. and Poulin M. (1999). Notice d'utilisation du logiciel ProSe. Logiciel de simulation de l'hydrodynamique, du transport et du fonctionnement biogéochimique d'un réseau hydrographique.

Faure C. and Papegay Y., 1998. Odysee User's guide. Version 1.7. Rapport technique n°0224, INRIA, pp 81.

Garnier J., Billen G. and Servais P. (1992a). Physiological characteristics and ecological role of small and large sized bacteria in a polluted river (Seine River, France). *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.* **37**, 83-94.

Garnier J., Servais P. and Billen G. (1992b). Bacterioplankton in the river Seine (France) : impact of the parisian urban effluent. *Can. J. Microbiol.* **38**, 56-64.

Garnier J. and Billen G. (1994). Ecological interactions in a shallow sand-pit lake (Lake Créteil, Parisian Basin, France): a modelling approach. *Hydrobiologia*. **275/276**, 97-114.

Garnier J., Billen G. and Coste M. (1995). Seasonal succession of diatoms and chlorophyceae in the drainage network of the river Seine : observations and modelling. *Limnol. Oceanogr.* **40**(4), 750-765.

Garsdal H., Mark O., Dørge J. and Jepsen S.E. (1995). Mousetrap: modelling of water quality processes and the interaction of sediments and pollutants in sewers, *Water Science and Technology*, **31**(7), 33-41.

Goel, R., Mino, T., Satoh H. and Matsuo T. (1998). Intracellular storage compounds, oxygen uptake rates and biomass yield with readily and slowly degradable substrate. *Wat. Sci. Tech.* **38**(8-9), 85-93.

Grady C. P. L., Smets B. F. and Barbeau D. S. (1996) Variability in kinetic parameter estimates : a review of possible causes and a proposed terminology. *Water Research* **30**, 742-748.

Grau P., Sutton P. M., Henze M., Elmaleh S., Grady C. P. L. Jr, Gujer W. and Koller J. (1982). Recommended notation for use in the description of biological wastewater treatment processes. *Wat. Res.*, **16**, 1501-1505.

Gujer, W., Henze, M., Mino, T. and Van Loosdrecht, M. C. M. (1999) Activated sludge model No.3. *Wat. Sci. Tech.* **39**, 138-194.

Harremoës, P. (1997) Integrated water and waste management. *Water Science and Technology*, **35**(9):11-20.

Henze, M., Grady, C.P.L. Jr, Gujer, W., Marais, G.v.R. and Matsuo, T. (1987) Activated Sludge Model N°1. (IAWPRC Scientific and Technical Report N°1) London : IAWPRC.

Henze M. (1992). Characterization of wastewater for modelling of activated sludge processes. *Water Science and Technology*, **25**(6), 43-57.

Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Wentzel, M.C. and Marais, G.v.R. (1995) Activated Sludge Model N°2. (IAWPRC Scientific and Technical Report N°3) London : IAWQ.

Henze, M., Gujer, W., Mino, T., Wentzel, M.C., Marais, G.v.R. and van Loosdrecht, M.C.M. (1999) Activated Sludge Model N°2d, ASM2d. *Wat. Sci. Technol.*, **39**(1), 165-182.

Henze M., Gujer W., Mino T. and Van Loosdrecht M.C.M. (2000). Activated sludge model No.3. in "Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3" edited by the IWA task group on mathematical modeling for the design and operation of biological wastewater treatment. IWA Publishing, pp 121.

Huber W.C. and Dickinson R.E. (1988). Storm Water Management Model, Version 4, User's Manual. US Environmental Agency, EPA-600/3-88-001a.

Kappeler J. and Gujer W. (1992) Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge modelling. *Wat. Sci. Technol.* **25**, 43-57.

Khan E., Babcock R., Suffet I. M. H. and Stenstrom M. K. (1998a). Method development for measuring biodegradable organic carbon in reclaimed and treated wastewater. *Water Environment Research*, **70**, 1025-1032.

Khan E., Babcock R., Suffet I. M. H. and Stenstrom M. K. (1998b). Biodegradable dissolved organic carbon for indicating wastewater reclamation plant performance and treated waste water quality. *Water Environment Research*, **70**, 1033-1040.

Krishna C. and Van Loosdrecht M. C. M. (1999). Substrate flux into storage and growth in relation to activated sludge modeling. *Wat. Res.* **33**(14), 3149-3161.

Kristensen G. H., Jørgensen P. E., Henze M. (1992) Characterization of functional micro-organisms groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR. *Water Science and Technology*, **25**(6), 43-57.

Lancelot C. and Billen G. (1985). Carbon-nitrogen relationships in nutrient metabolism of coastal ecosystems. In *Advances in Aquatic microbiology*, p. 263-321. Academic Press.

Lancelot C., Veth C. and Mathot S. (1991). Modelling ice edge phytoplankton bloom in the Scotia Weddell Sea sector of the Southern Ocean during spring 1988. *Journ.Mar.Syst.*, **2**, 333-346

Lancelot C., Rousseau V., Billen G. and Van Eeckhout D. (1997). Coastal eutrophication of the Southern Bight of the North Sea : assessment and modelling. In : "Sensitivity of North Sea, Baltic Sea and Black Sea to anthropogenic and climatic changes". E. Ozsoy & A. Mikaelyan, ed., NATO-ASI series, 2. Environment **27**, 439-454.

Lancelot C., Hannon E., Becquevort S., Veth C. and H. J. W. de Baar. (2000). Modeling phytoplankton blooms and carbon export production in the Southern Ocean: Dominant controls by light and iron of the Atlantic sector in Austral spring 1992. *Deep Sea Research-I*, **47**, 1621-1662.

Laurent P., Servais P., Prévost M., Gatel D. and Clement B. (1997). Testing the SANCHO model on distribution systems. *Journal American Water Works Association*. **89**(7): 92-103.

Laurent P., Barbeau B. and Servais P. (2001). Evaluating the impacts of treatment modifications on regrowth potential in distribution systems : a new screening procedure using water quality modeling. *Urban Water*. In Press.

Lee C. (1992) Controls on organic-carbon preservation – the use of stratified water bodies to compare intrinsic rates of decomposition in oxic and anoxic systems. *Geochim. Cosmochim. Acta*. **56**, 3323-3335.

Le Réveillé G. and Tusseau-Vuillemin M.-H. (2000) Biodegradable Organic Matter in treated wastewaters of the Seine river basin. proceedings of the 1st World Congress of the IAWQ, Paris.

Liu, Y. (1996) Bioenergetic interpretation on the S₀/X₀ ratio in substrate-sufficient batch culture. *Wat. Res.* **30** (11), 2766-2770.

Liu, Y., Chen G.-H., Paul, E. (1998) Effect of the S₀/X₀ ratio on energy uncoupling in substrate-sufficient batch culture of activated sludge. *Wat. Res.* **32** (10), 2883-2888.

Liu, Y. (2000) The S₀/X₀-dependant dissolved organic carbon distribution in substrate-sufficient batch culture of activated sludge. *Wat. Res.* **34** (5), 1645-1651.

Low E. W. and Chase H. A. (1999). The effect of maintenance energy requirements on biomass production during wastewater treatment. *Water Research*, **33**, 847-853.

Magne G., Phan L., Price R. and Wixcey J. (1996). Validation of HYDROWORKS-DM, a Water Quality Model for Urban Drainage. 7th International Conference on Urban Storm Drainage, **3**, 1359-1364.

Majone, M., Massanisso, P., Carucci, A., Lindrea, K. and Tandoi, V. (1996). Influence of storage on kinetic selection to control aerobic filamentous bulking. *Wat. Sci. Tech.*, **34**(5-6), 223-232.

Majone M., Dircks K. and Beun J.J. (1999). Aerobic storage under dynamic conditions in activated sludge processes. The state of the art. *Water Science and Technology*, 39(1):61-73.

Mamais D., Jenkins D. and Pitt P. (1993). A rapid physico-chemical method for the determination of readily biodegradable soluble COD in municipal wastewater. *Water Research*, 27(11):195-197.

Mino, T., Arun, V., Tsuzuki, Y. and Matsuo, T. (1987). Effect of phosphorus accumulation on acetate metabolism in the biological phosphorus removal process. *Biological Phosphate Removal from Wastewater (Advances in water Pollution Control No.4)*, Ramadori R. (ed), 27-38, Pergamon Press, Oxford.

Moys G.D., Osborne M.P. and Payne J.A. (1988). MOSQUITO 1. Modelling of Stormwater quality including tanks and overflows. Design Specification, Hydraulic Research Report SR 184.

Münch V.E. and Pollard P.C. (1997). Measuring bacterial biomass-COD in wastewater containing particulate matter. *Water Research*, 31(10):2550-2556.

Orhon D. and Cokgör E. U. (1997). COD fractionation in Wasterwater Characterization – The State of the Art. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, 68, 283-293.

Pagni, M., Beffa, T., Isch, C., Aragno, M. (1992) Linear growth and polyhydroxybutyrate synthesis in response to pulse wise addition of the growth limiting substrate to steady state heterotrophic continuous cultures of *Aquaspirillum autotrophicum*. *J. Gen. Microb.*, 138, 429-436.

Perdrieux S. and Thérien N. (1980). Modelling the dynamics of the activated sludge wastewater treatment process in terms of the carbon variable. *Water Research*, 33, 1333-1344.

Pitter P. and Chudoba J. (1990) Biodegradability of organic substances in the aquatic environment. CRC Press, Boca Raton, USA.

Poirier, Y., Nawrath, C. and Somerville, C. (1995). Production of polyhydroxyalkanoates, a family of biodegradable plastics and elastomers, in bacteria and plants. *Nature Biotechnology*, 13(2), 142-150.

Porter K. G. and Feig Y. S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* 25, 943-948.

Rosenstock B. and Simon M. (1993). Use of dissolved combined and free acids by planktonic bacteria in lake constance. *Limnol. Oceanogr.* 38(4), 1521-1531.

Schütze M., Butler D., and Beck M.B. (1999). Optimisation of control strategies for the urban wastewater system – an integrated approach. *Wat. Sci. Tech.*, 9, 209-216.

Seidl M., Servais P., Martaud A., Gandouin C. and Mouchel J.M. (1998). Organic carbon biodegradability and heterotrophic bacteria along a combined sewer catchment during rain events ; *Water Science and Technology*, 37, 25-33.

Servais (1986). Etude de la dégradation de la matière organique par les bactéries hétérotrophes en rivière : Développement d'une démarche méthodologique et application à la Meuse belge. PhD Thesis Université Libre de Bruxelles.

Servais P., Billen G. and Hascoët M-C (1987). Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Water Research*. **21**(4), 445-450.

Servais, P. (1989). Modélisation de la biomasse et de l'activité bactérienne dans la Meuse belge, *Rev. Fr. Sci. Eau*, **2**, 543-563.

Servais P., Anzil A. and Ventresque C. (1989). Simple method for determination of biodegradable dissolved organic carbon in water. *Applied and Environmental Microbiology*. Oct. 1989, 2732-2734.

Servais P. (1989). Bacterioplankton biomass and production in the river Meuse (Belgium). *Hydrobiologia* **174**, 99-110.

Servais P. and Garnier J. (1990). Activité bactérienne hétérotrophe dans la Seine : Profils d'incorporation de thymidine et de leucine tritiées. C.R. Acad., Sci., Paris, **331**(III), 353-360.

Servais, P. and Billen G. (1993). Dynamics of heterotrophic bacteria in aquatic systems : the HSB model. In : Trends in Microbial Ecology, R. Guerrero & J. Pedros-Alio, ed., 397-400.

Servais P., Barillier A. and Garnier J. (1995a). Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon in waters. *Annales Limnologie*, **31** 75-80.

Servais P., Laurent P., Billen G. and Gatel D. (1995b). Development of a model of BDOC and bacterial biomass fluctuations in distribution systems, *Revue des Sciences de l'Eau* : 8 : 427-464.

Servais P. et al. (1998). Carbone organique : origines et biodégradabilité. In La Seine en son bassin : fonctionnement écologique d'un système fluvial anthropisé. pp 483-529. Ed. Elsevier.

Servais P., Seidl M. and Mouchel J.-M., (1999)a. Comparison of parameters characterizing organic matter in a combined sewer during rain events and dry weather. *Water Environmental Research*. **71**, 408-417.

Servais, P., Garnier, J., Demarteau, N., Brion, N. and Billen, G. (1999)b. Supply of organic matter and bacteria to aquatic ecosystems through waste water effluents. *Water Research*, **33**(16):3521-3531.

Shan Y., McKelvey I. D., and Hart B. T. (1994). Determination of alkaline phosphatase-hydrolysable phosphorus in naturel water systems by enzymatic flow injection. *Limnol. Oceanogr.* **39**(8), 1993-2000.

Shanahan P., Henze M., Koncsos L., Rauch W., Reichert P., Somlyódo L. and Vanrolleghem P. (1998). River water quality modelling : II. Problems of the art. *Wat. Sci. Tech.*, **38**(11), 245-252.

Simon M. and Azam F. (1989). Protein content and protein synthesis rates of planktonic bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, **51**:201-213.

Sözen S., Ubay Cokgör E., Orhon D. and Henze M. (1998). Respirometric analysis of activated sludge behaviour.II. Heterotrophic growth under aerobic and anoxic conditions. *Water Research*, **32**, 476-488.

Sollfrank U. and Gujer W. (1991). Characterization of domestic wastewater for mathematical modelling of the activated sludge process. *Water Science and Technology* **23**:1057-1066.

Somlyódy L., Henze M., Koncsos L., Rauch W., Reichert P., Shanahan P. and Vanrolleghem P. (2000). River water quality modelling : III. The future of the art. Proceedings of the 1st IWA Conference, held in Paris, May 2000.

Spanjers H., Vanrolleghem P., Olsson G. and Dold P. (1998). Respirometry in control of the activated sludge process. IWA Scientific and Technical Report No.7, pp 48.

Spérandio M. (1998). Développement d'une procédure de compartimentation d'une eau résiduaire urbaine et application à la modélisation dynamique de procédés à boues activées. PhD Thesis INSA Toulouse.

Spérandio M., Paul E. (2000). Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various S0/X0. *Wat. Res.* **34**, 1233-1246.

Steeter H.W. and Phelps E.B. (1925). A study of the pollution and natural purification of Ohio river. *U.S. Public. Health Service*, Washington DC, Bulletin 146.

Thacker W.C. (1989). The role of hessian matrix in fitting models to measurements. *Journal of Geophysical research*, 94-C5:6177-6196.

Torrijos M., Cerro R.M., Capdeville B., Zeghal S., Payraudeau M. and Lesouel A. (1994). Sequencing batch reactor : a tool for wastewater characterization for the IAWPRC model. *Wat. Sci. Tech.*, **29**(7), 81-90.

Tusseau-Vuillemin M.-H. et Le Réveillé G., (2001) Le carbone organique biodégradable dans les eaux traitées du bassin de la Seine, *Ingénieries Eau et Territoire*, **25**, 3-12.

Tusseau M.H., Dispan J., Mouchel J.M. et Servais P. (2003). Biodegradable fraction of organic carbon estimated under oxic and anoxic conditions. *Water Research*, 37:2242-2247.

Ubay Cokgör E., Sözen S., Orhon D. and Henze M. (1996). Respirometric analysis of activated sludge behaviour. I. Assessment of the readily biodegradable substrate. *Water Research*, **32**(2):461-475.

Van Aalst-van Leeuwen, M. A., Pot, M. A., van Loosdrecht, M. C. M. and Heijnen, J. J. (1997). Kinetic Modeling of term poly- β -hydroxybutyrate. Production and consumption by *Paracoccus pantotrophus* under dynamic substrate supply. *Biotech. Bioeng.*, **55**(5), 773-782.

Van Eeckhout D. and Lancelot C. (1997). Modelling the functioning of the NW Black Sea from 1960 to present. In : "Sensitivity of North Sea, Baltic Sea and Black Sea to

anthropogenic and climatic changes". E. Ozsoy & A. Mikaelyan, ed., NATO-ASI series, 2. Environment **27**, 455-468.

Van Aalst-van Leeuwen M.A.; Pot M.A.; Van Loosdrecht M.C.M.; Heijnen J.J. (1997) Kinetic modeling of polyhydroxybutyrate production and consumption by *Thiosphaera pantotropha* under dynamic substrate supply. *Biotechnology and Bioengineering*, **55**(5), 773-782.

Van Haandel A. C., Ekama G. A., Maris G. v. R. (1981) The activated sludge process-3. Single sludge denitrification. *Water Research* **15**, 1135-1152.

Van Loosdrecht, M. C. M. and Henze, M. (1999) Maintenance, endogenous respiration, lysis, decay and predation. *Wat. Sci. Tech.* **39**, 107-118.

Van Loosdrecht, M. C. M., Pot, M. A. and Heijnen, J. J. (1997). Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Wat. Sci. Tech.*, **35**(1), 41-47.

Van Niel, E. W. J., Robertson, L. A. and Kuenen, J. G. (1995). Rapid short-term poly- β -hydroxybutyrate production by *Thiosphaera Pantothropha* in the presence of excess acetate. *Enzyme and microbial Technology*, **17**, 977-982.

Vanrolleghem P.A., Spanjers H., Petersen B., Ginestet P. et Tackacs I. (1999). Estimating (combinations of) activated sludge model N°1 parameters and components by respirometry. *Water Science and Technology*, **39**(1):195-214.

Vollertsen J. (1998). Solids in combined sewers. Characterization and transformation. PhD Thesis Aalborg University.

Vollertsen J. and Hvitved-Jacobsen T. (1998). Aerobic microbial transformations of resuspended sediments in combined sewers – a conceptual model. *Water Science and Technology*, **37**, 69-76.

Vollertsen J. and Hvitved-Jacobsen T. (1999). Stoichiometric and kinetic model parameters for microbial transformations of suspended solids in combined sewer systems. *Water Research*, **14**, 3127-3141.

Warren, I.R. and Bach, H.K. (1992). MIKE 21: a modelling system for estuaries, coastal waters and seas. *Environmental Software* **7**(4), 229-240

Wentzel, M. C., Lötter, L. H., Ekama, G. A., Loewenthal, R. E. and Marais, G. v. R. (1991). Evaluation of biological models for biological excess phosphorus removal. *Wat. Sci. Tech.*, **23**(4-6), 899-905.

Xu S. and Hasselblad S. (1996) A simple biological method to estimate the readily biodegradable organic matter in wastewater. *Water Science and Technology* **30**, 4, 1023-1025.

Zehnder A. J. B. and Colberg P. J. (1986) Anaerobic biotransformation of organic carbon compounds. In *Microbial communities in soil*, eds. Jensen V., Kjoller A. & Sorensen L.H., pp. 275-291, Elsevier, London.

Zhu C., Byrd R.H., Lu P., Nocedal J., 1994. L-BFGS-B: a limited memory FORTRAN code for solving bound constrained optimization problems', Tech. Report, NAM-11, EECS Department, Northwestern University.

ANNEXES

PUBLICATION 1

BIODEGRADABLE FRACTION OF ORGANIC CARBON ESTIMATED UNDER OXIC AND ANOXIC CONDITIONS

MARIE-HELENE TUSSEAU-VUILLEMIN ^{*(1)}, JEROME DISPAN ⁽²⁾,
JEAN-MARIE MOUCHEL ⁽²⁾ and PIERRE SERVAIS ⁽³⁾

(1) Cemagref, U.R. Qualité et Fonctionnement Hydrologique des Systèmes Aquatiques,
Parc de Tourvoie, BP 44,
F-92 163 ANTONY Cedex, FRANCE.

(2) CERREVE, Ecole Nationale des Ponts et Chaussées,
6 et 8 Avenue Blaise Pascal,
Cité Descartes – Champs-sur-Marne,
F – 77 455 MARNE-LA-VALLEE Cedex 2, FRANCE

(3) Ecologie des Systèmes Aquatiques,
Université Libre de Bruxelles
Campus Plaine, CP 221,
1050 BRUSSELS, BELGIUM

TECHNICAL NOTE ACCEPTED TO WATER RESEARCH (November 2002)

KEY-WORDS : biodegradable organic carbon, oxic conditions, anoxic conditions, wastewaters, water test method.

SHORT TITLE : BIODEGRADABILITY UNDER OXIC AND ANOXIC CONDITIONS

NOMENCLATURE

OC	Organic Carbon
DOC	Dissolved organic carbon
POC	Particulate organic carbon
TOC	Total organic carbon
BDOC _{O2} , BDOC _{NO3}	Biodegradable DOC measured in oxic or anoxic conditions, respectively.
BPOC _{O2} , BPOC _{NO3}	Biodegradable POC measured in oxic or anoxic conditions, respectively.
BTOC _{O2} , BTOC _{NO3}	Biodegradable TOC measured in oxic or anoxic conditions, respectively

Author to whom the correspondence should be addressed.
marie-helene.tusseau@cemagref.fr

Abstract

The biodegradability of water samples is usually estimated with bioassays under oxic conditions. In order to overcome some of the drawbacks linked to the incubation of the samples in aerobic batches, a new protocol is proposed and tested, which is based on an organic carbon (OC) balance after a 45 days incubation under anoxic conditions. The biodegradable fractions of organic matter obtained with the anoxic protocol are slightly lower than those obtained under aerobic conditions. Several possible reasons for a systematic underestimation of the biodegradable organic matter under anoxic conditions are evaluated and discussed : a reduced microbial metabolic potential, significantly reduced degradation rates for the slowly biodegradable organic matter, an additional production of refractory organic compounds during the incubation, or the inhibition of the recycling of the organic matter stored in bacterial biomass. Nevertheless, the 7% difference observed on the biodegradable total OC estimations keeps low enough so that the anoxic protocol can be proposed as a convenient alternative to the aerobic one.

Introduction

The biodegradable fraction of organic carbon (OC) is of importance both in natural waters and in wastewaters. In natural aquatic systems, the biodegradable OC controls bacterial activity and thus oxygen consumption; in wastewaters only the biodegradable fraction of OC can be removed by biological treatment as activated sludge. The estimation of the biodegradability is usually performed with bioassays in oxic conditions (biochemical oxygen demand, for example). However, as the denitrifying process deserved growing attention in wastewater treatment, anoxic bioassays based on nitrate consumption were proposed for estimating the biodegradable organic matter (Kristensen *et al.*, 1992).

Servais *et al.* (1995) proposed a simple procedure based on carbon balances to estimate the biodegradable fraction of DOC and POC in batch experiments. This procedure was successfully applied to study the biodegradable fraction of organic matter in samples collected in sewers (Seidl *et al.*, 1998), in raw and treated waste waters (Servais *et al.*, 1999b, Tusseau-Vuillemin et Le Réveillé, 2001) and in natural waters (Servais *et al.*, 1995).

In this procedure, the sample is incubated during 45 days under aerobic conditions. Therefore, the batch is intermittently oxygenated by air bubbling and any carbon contamination through the aeration is avoided by letting the air previously bubble in two successive bathes of sulfochromic mixture and distilled water. This procedure of air bubbling is not very convenient as it requires to use dangerous sulfochromic acid and does not allow to manage in parallel a large number of samples. In this paper, we explore an alternative way of performing those biodegradation incubations under anoxic conditions, i.e. based on denitrification process. This procedure would allow to avoid the air bubbling and its drawbacks.

Material and Methods

Samples collection.

Eighteen samples were collected from either raw wastewaters (12 samples from 9 wastewater treatment plants of various size and type of process), treated wastewaters (2 samples from one activated sludge wastewater treatment plant) and river waters (4 samples from 4 rivers exposed to different levels of urban pressure). After collection and before the beginning of the analysis, special care was taken to keep the samples refrigerated ($T < 4^{\circ}\text{C}$) to prevent an early biodegradation. In order to avoid any organic contamination, all material was carefully rinsed with a sulfochromic mixture or decontaminated by combustion (4 hours at 550°C).

Dissolved and particulate organic carbon Analysis.

Water samples (30 to 100 mL, depending on the turbidity) were filtered through pre-combusted (4 hours at 550°C) fiberglass filter (Whatman GF/F). DOC concentration was determined on the filtrate with either a Dohman DC 180 total carbon analyser (UV persulfate oxidation of organic carbon followed by infrared spectrophotometric detection of the produced CO_2) or a OI-Analytical 1100 total carbon analyser (similar principle but hot oxidation without UV). With both apparatus, the accuracy of DOC determinations was approximately 0.05 mgC.L^{-1} . Triplicates were performed for each sample. POC was determined on several pieces stamped out of the filter (Seidl *et al.*, 1998). The organic matter retained on the filter was oxidized by catalytic combustion and the carbon dioxide produced was analyzed using the same detector as for DOC measurements. The accuracy of POC determination was approximately 0.05 mgC.L^{-1} . Triplicates at least were performed for each sample.

Biodegradable dissolved and particulate organic carbon (BDOC_{O_2} and BPOC_{O_2} , $\text{BDOC}_{\text{NO}_3}$ and $\text{BPOC}_{\text{NO}_3}$).

BDOC_{O_2} and BPOC_{O_2} were determined according to Servais *et al.* (1995). The samples (at least 250 mL) were incubated at $20^{\circ}\text{C} \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ in the dark during 45 days. They were intermittently oxygenated by air bubbling to maintain aerobic conditions, and continuously agitated. In order to avoid carbon contamination through the aeration, air was previously bubbled in two successive bathes, the first of sulfochromic mixture and the second of distilled water, before injection to the batch. Under these conditions, the DOC concentration in a MilliQ water reference batch was shown to keep lower than 0.4 mg C.L^{-1} after ten days of

incubation (Le Réveillé and Tusseau-Vuillemin, 2000). Sub-samples were collected in the batch at the beginning and at the end of the incubation and analysed for dissolved and particulate organic carbon. BDOC_{O_2} and BPOC_{O_2} were determined as the difference between the concentrations of DOC and POC, respectively, at the beginning and at the end of incubation. Previous experiments have shown that, by the end of 45 days of incubation, DOC and POC had reached stable values that are defined as the refractory part of dissolved and particulate organic carbon (Servais *et al.*, 1995). The biodegradable total organic carbon (BTOC) was calculated as the sum of BDOC and BPOC. The average difference between BDOC_{O_2} , BPOC_{O_2} and BTOC_{O_2} duplicates was estimated during previous experiments to amount less than 5% (Le Réveillé and Tusseau-Vuillemin, 2000).

$\text{BDOC}_{\text{NO}_3}$ and $\text{BPOC}_{\text{NO}_3}$ were determined with the same procedure as BDOC_{O_2} and BPOC_{O_2} excepted that the incubation was performed at 20°C under anoxic condition. A few mL of a concentrated Na-NO_3 solution (100 gN.L^{-1}) were added to the samples so that nitrate concentration could be considered non-limiting for the biodegradation of organic matter in denitrifying conditions. At the beginning of the incubation, nitrogen gas was bubbled into the batch during a few minutes in order to remove any trace of dissolved oxygen. N_2 gas was also passed over the liquid before closing of the vessels in order to prevent O_2 introduction from the overlying gas during the incubation. This procedure was followed every time the vessel happened to be opened during the incubation. Sub-samples were collected in the batch at the beginning and at the end of the incubation and analyzed for dissolved and particulate organic carbon.

In some occasions, additional sub-samples were also collected in both anoxic and oxic batches and analyzed during the incubation in order to study the kinetics of the organic matter biodegradation.

Results and discussion.

The organic carbon concentrations measured in all the samples span over a wide range of concentrations (Table 1), reflecting their various origins. The biodegradable fractions measured either under oxic or anoxic conditions in these samples display also a great variability, being very small in river waters, intermediate in treated wastewaters and much more important in raw wastewaters.

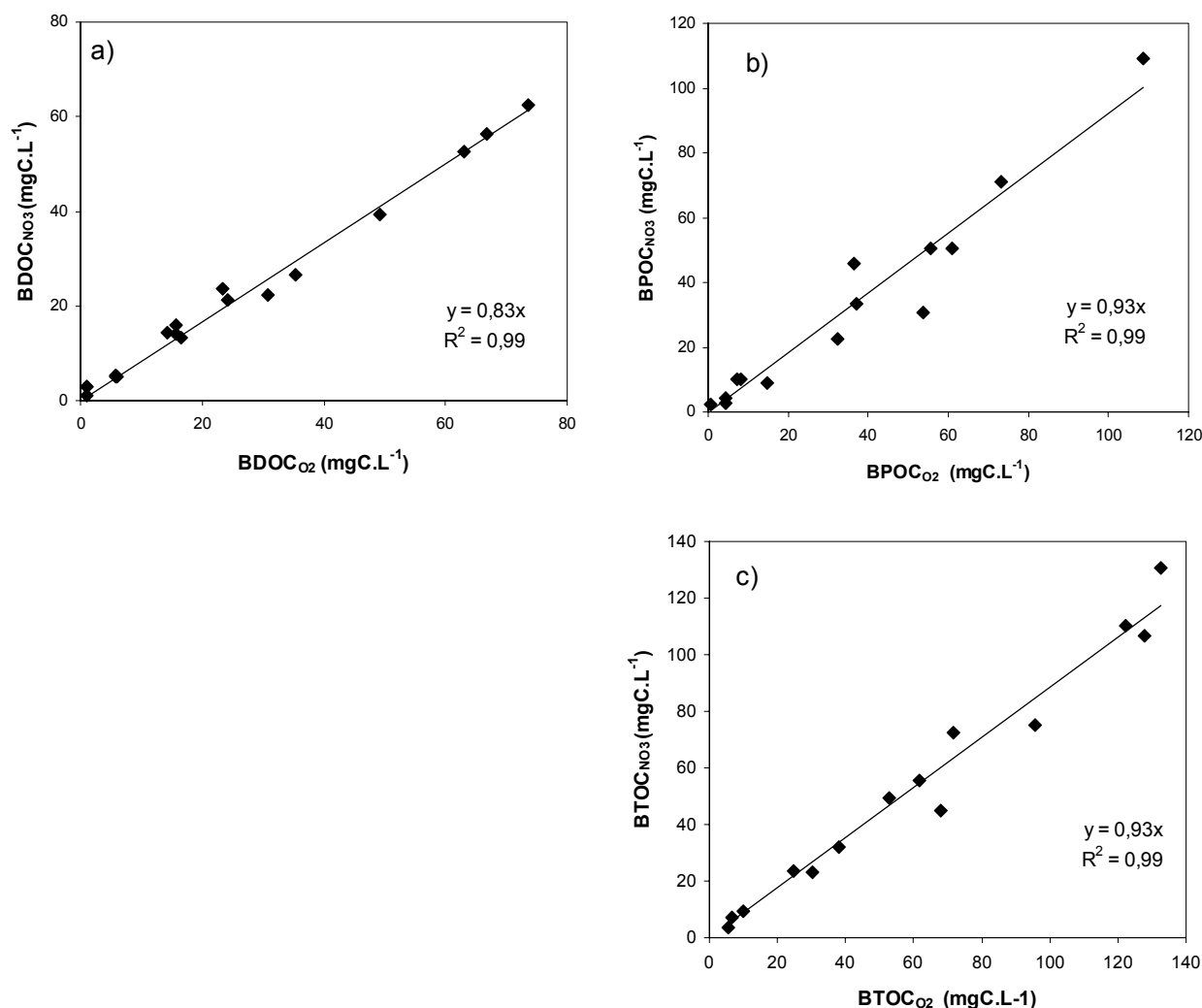
Table 1. Organic carbon concentrations measured in the samples, expressed in mgC.L⁻¹. Initial characterization, biodegradable fractions as obtained from oxic and anoxic procedures.

	Initial characterization			Biodegradable fractions (oxic conditions)			Biodegradable fractions (anoxic conditions)		
	DOC	POC	TOC	BDOC _{O2}	BPOC _{O2}	BTOC _{O2}	BDOC _{NO3}	BPOC _{NO3}	BTOC _{NO3}
Raw wastewaters	21.9	18.2	40.1	16.7	8.0	24.7	13.4	10.2	23.6
	25.2	65.6	90.8	15.8	37.2	53.0	15.9	33.5	49.4
	21.1	56.0	77.1	14.3	39.4	53.7	14.3	30.8	45.1
	29.7	144.9	174.6	24.1	108.7	132.8	21.1	109.3	130.5
	82.4	511.1*	593.5*	73.6	442.8*	516.4*	62.4	410.4*	472.8*
	73.1	53.5	126.6	63.1	32.5	95.6	52.5	22.5	75.0
	44.5	73.6	118.1	35.3	36.4	71.7	26.5	45.8	72.3
	20.7	21.1	41.8	15.7	14.7	30.4	14.1	9.0	23.1
	57.8	101.9	159.7	49.3	73.1	122.4	39.3	70.9	110.2
	35.2	31.9	67.1	30.8	7.2	38.0	22.2	10.0	32.2
	73.5	92.4	165.9	66.8	60.9	127.7	56.3	50.4	106.7
Treated wastewaters	10.6	66.8	77.5	5.9	55.7	61.6	5.1	50.3	55.4
	9.7	10.1	19.8	5.8	4.3	10.0	5.4	4.1	9.5
River waters	10.3	7.4	17.7	6.0	0.6	6.5	4.9	2.3	7.2
	31.2			23.5			23.7		
	8.9			1.1			3.0		
	7.9			1.0			3.0		
	5.2	17.2	22.4	1.1	4.4	5.5	1.0	2.7	3.7

*These exceptionally high data were not included on the graphs, nor used for regressions. However, the ratio between anoxic and oxic biodegradable fractions are highly similar to the other ones.

BDOC, BPOC and BTOC concentrations resulting from an oxic incubation were plotted against those obtained under anoxic conditions (Figure 1). Very significant correlations were obtained between both estimations, the regressions expressing a slightly but significantly lower estimation of the BDOC, BPOC and BTOC concentrations (respectively 17%, 7% and 7%) under anoxic conditions (slopes < 1; $\alpha < 0.05$). These data show that anoxic incubations can be used for the determination of BDOC and BPOC within the precision range mentioned above.

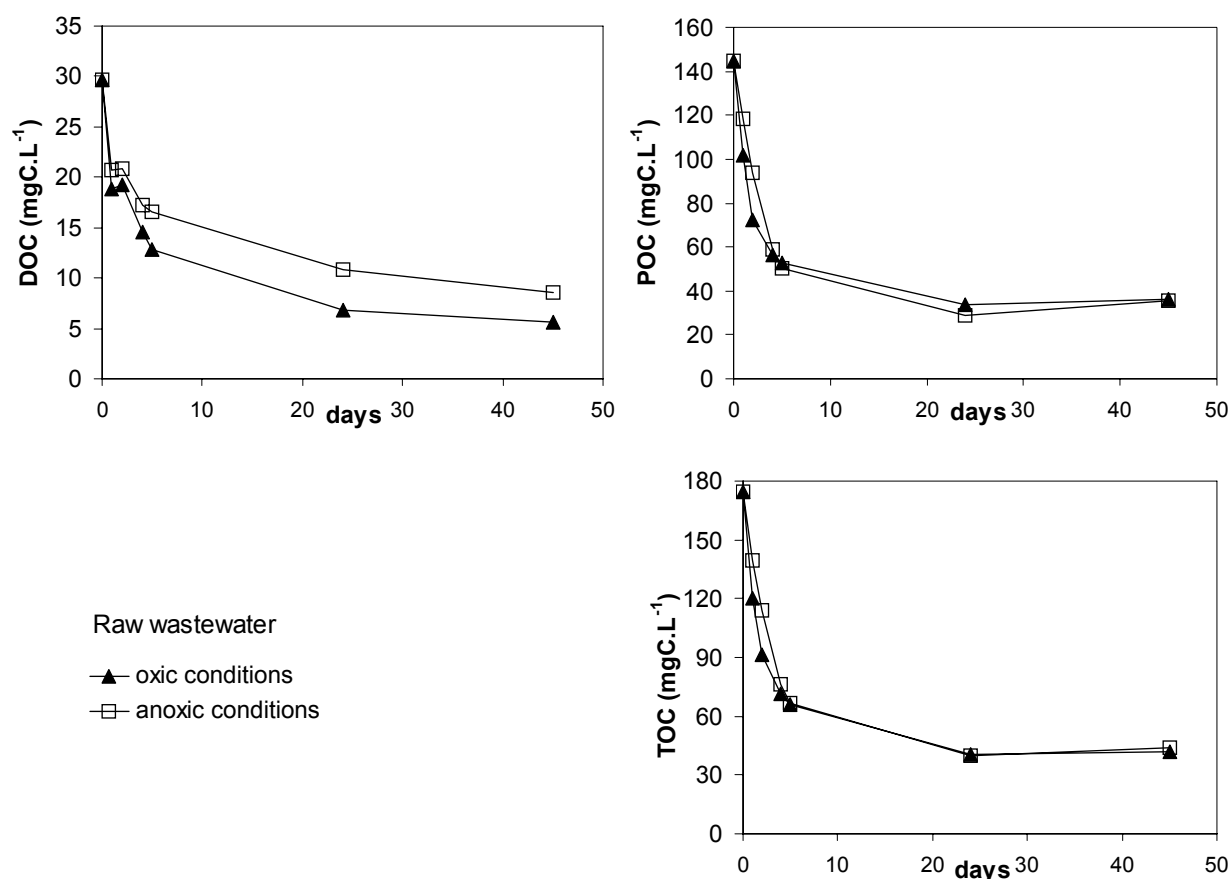
Figure 1. Comparison of BDOC (a), BPOC (b) and BTOC (c) obtained either under oxic or anoxic conditions, all expressed in mgC.L^{-1} .



Indeed, substrates microbial availability in natural waters is generally believed to be reduced under anoxic conditions, since many enzymatic processes (typically those catalyzed by oxygenases) cannot be activated (Zehnder and Colberg, 1986) and the full metabolic potential of an aerobic culture may no longer be available under anoxic conditions. It might also happen that some very stable compounds (such as lignins or aliphatic structures) need a chemical oxydation prior to their biodegradation. However, Bastviken *et al.* (2001), recently observed in lake water cultures under carbon-limited conditions that the availability of dissolved organic matter under anoxic conditions was equal to (or even greater than) that under oxic conditions. The fact that the microbial availability of organic matter is the same under oxic or anoxic conditions has long been admitted in the case of wastewaters submitted to an activated sludge (Van Haandel *et al.*, 1981) and this statement actually provides the basis for the wastewater treatment numerical modeling (Henze, 1986). However, most of

these earlier studies are based on bacterial growth measurements, the precision of which cannot be considered better than 10%.

Figure 2. Raw wastewater DOC (a), POC (b) and TOC (c) kinetics of biodegradation during oxic (black triangles) and anoxic (empty squares) 45 days incubations, all expressed in mgC.L^{-1}



No clear agreement is found neither in the literature on the comparison of the organic matter degradation rates under anoxic or oxic conditions. According to Dold, (1980) and Sözen *et al.* (1998), both the rates of hydrolysis of slowly degradable organic matter and of bacterial uptake of readily biodegradable substrate of wastewaters were reduced under anoxic conditions. We observed a similar tendency on several kinetics records, a representative example of which is given in Figure 2. Conversely, Lee (1992) reported that the intrinsic degradation rates of organic matter from natural waters were similar under oxic or anoxic conditions. In the example of Figure 2, the delay clearly appeared on the initial phase of POC anoxic kinetics but was equalized by a period of ten days. DOC initial kinetics exhibited a minor difference, which increased by the end of the incubation.

Beyond the initial availability of the organic matter or its degradation kinetics, the difference between the 45 days balances could arise from an additional production of refractory organic matter during the anoxic incubation. Two main pathways are discussed here-below. The anoxic regime is likely to induce the decay not only of the heterotrophic bacteria that are not capable of adapting to anoxia, but also of most of the bacterial grazers. Firstly, the decay of 40-60% of the initial biomass in wastewater in anoxic conditions (percentages according to Kristensen *et al.*, 1992) can produce a significant amount of organic matter, since the whole initial biomass is expected to be less than 10% of the BTOC in wastewater (Seidl *et al.*, 1998, Servais *et al.*, 1999a) or up to 20% of the biodegradable COD (Henze, 1992). However, this decaying biomass produces partly degradable matter, and cannot totally account for the difference between BTOC_{O_2} and $\text{BTOC}_{\text{NO}_3}$. Secondly, a reduction of the grazing pressure under anoxic conditions could considerably slow down the recycling of the organic matter stored in the biomass. Under such a reasonable hypothesis, the behavior of the biomass produced during the degradation process would also be significantly different under oxic and anoxic situations. Bacterial growth yields found in the litterature greatly vary (from 0.2 e.g. by Servais and Garnier, 1993 to 0.67 for Henze *et al.*, 1986), depending on the techniques and on the conceptual definitions. Taking a consensual value of bacterial growth yield equal to 0.4 means that 40% of the biodegradable organic matter is temporarily stored as bacterial biomass. Its further recycling relies on various bacterial mortality processes, among which the spontaneous lysis and the grazing. Whenever this latter process is partially inhibited, part of 40% of the biodegradable organic matter would be kept in the system as bacterial biomass instead of being respired and further recycled, then only a small change in the grazing pressure could account for the observed 7% difference between oxic and anoxic conditions. Lee (1992) and Cole and Pace (1995) argue that this reduction of the grazing pressure is responsible of the preservation of organic matter in anoxic sediments. Our data suggest that this process could induce up to 7% preservation of BTOC during a 45 days incubation.

Conclusion.

An alternative method for the measurement of the biodegradable fraction of organic carbon in water samples has been proposed, based on the carbon balance resulting of a 45 days anoxic incubation. The greatest advantage of this method is that it does not require a continuous aeration of the batches. When tested on a variety of water samples, this method is shown to under-evaluate by 17 %, 7 % and 7% the fractions of biodegradable dissolved, particulate and

total organic carbon respectively, as compared with the results obtained with a similar aerobic incubation. One hypothesis for this lower biodegradability might stand in the reduced metabolic potential of aerobic microbes facing anoxic conditions and a reduced bioavailability of substrates. Another hypothesis is that the recycling of bacterial biomass (mainly through grazing) would be inhibited under anoxic conditions, leading to an increased preservation of organic matter as bacterial biomass. Nevertheless, the 7% difference observed on the biodegradable total organic carbon estimations keeps low enough so that the anoxic protocol can be proposed as a convenient alternative to the aerobic one.

Acknowledgments

Part of the work presented in this paper was performed within the scope of the PIREN Seine program of the Centre National de la Recherche Scientifique (France). The authors thank Adriana Anzil, Nadine Derlet, Daniel Stadtmüller and Mohammed Saad for their excellent technical assistance.

References.

Bastviken D., Ejlerstsson J. and Tranvik L. (2001) Similar bacterial growth on dissolved organic matter in anoxic and oxic lake water. *Aquat. Microb. Ecol.* **24**, 41-49.

Cole J.J and Pace M.L. (1995) Bacterial secondary production in oxic and anoxic freshwaters. *Limnol. Oceanogr.* **40**, 1019-1027.

Dold P.L., Ekama G.A. and Marais G. v. R. (1980) A general model for the activated sludge process. *Prog. Wat. Tech.* **12**, 47-77.

Henze, M., Grady, C., Gujer, W., Marais, G. v. R. and Matsuo, T. (1986) Activated sludge Model N°. 1, *Scientific and Technical Reports No. 1*, 33p, IAWPRC, available from IWA Publishers, London.

Henze M., (1992) Characterization of wastewater for modelling of activated sludge processes. *Water Science and Technology*, **25**(6), 1-17.

Kristensen G. H., Jorgensen P. E., Henze M. (1992) Characterization of functional micro-organisms groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR. *Water Science and Technology*, **25**(6), 43-57.

Lee C. (1992) Controls on organic-carbon preservation – the use of stratified water bodies to compare intrinsic rates of decomposition in oxic and anoxic systems. *Geochim. Cosmochim. Acta.* **56**, 3323-3335.

Le Réveillé G. and Tusseau-Vuillemin M.-H. (2000) Biodegradable Organic Matter in treated wastewaters of the Seine river basin. proceedings of the 1st World Congress of the IAWQ, Paris.

Seidl M., Servais P., Martaud M., Gandouin and Mouchel J.-M. (1998) Organic carbon biodegradability and heterotrophic bacteria along a combined sewer catchment during rain events. *Water Science and Technology*. **37** 25-33.

Servais P. and Garnier J. (1993) Contribution of Heterotrophic Bacterial Production to the Carbon Budget of the River Seine (France). *Microbial Ecology*. **25** 19-33.

Servais P., Barillier A. and Garnier J. (1995) Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon in waters. *Annales Limnologie*, **31** 75-80.

Servais P., Seidl M. and Mouchel J.-M., (1999)a. Comparison of parameters characterizing organic matter in a combined sewer during rain events and dry weather. *Water Environmental Research*. **71**, 408-417.

Servais P., Garnier J., Demarteau N., Brion N. and Billen G. (1999)b. Supply of organic matter and bacteria to aquatic ecosystems through waste water effluents. *Water Research*. **33**, 3521-3531.

Sözen S., Çokgör U., Orhon D. and Henze M. (1998) Respirometric analysis of activated sludge behaviour-II. Heterotrophic growth under aerobic and anoxic conditions. *Water Research*. **32**(2), 476-488.

Tusseau-Vuillemin M.-H. et Le Réveillé G., (2001) Le carbone organique biodégradable dans les eaux traitées du bassin de la Seine, *Ingénieries Eau et Territoire*, **25**, 3-12.

Van Haandel A. C., Ekama G. A., Maris G. v. R. (1981) The activated sludge process-3. Single sludge denitrification. *Water Research* **15**, 1135-1152.

Zehnder A. J. B. and Colberg P. J. (1986) Anaerobic biotransformation of organic carbon compounds. In *Microbial communities in soil*, eds. Jensen V., Kjoller A. & Sorensen L.H., pp. 275-291, Elsevier, London.

ARTICLE 1

Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge. I. A methodology to assess model parameters. (*Soumis à Water Research*)

Jérôme Dispan¹, Jean-Marie Mouchel¹, Isabelle Charpentier² and Pierre Servais³

¹ CEREVE-ENPC, 6-8 av. Blaise Pascal, 77455 Marne-La-Vallée Cedex, France

² LMC-IMAG, 51 rue des Mathématiques, Project IDOPT, B. P. 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France

³ ESA, Université Libre de Bruxelles, CP221, boulevard du Triomphe, 1050 Bruxelles, Belgique

Abstract

Experiments were conducted to revisit the degradation of acetate by Waste Water Treatment Plant (WWTP) sludges. Their design allowed to minimize the number variables (initial conditions) to determine, while considering variable S/X ratio (substrate over biomass) to improve the quality of the estimated set of parameters. A methodology was developed using modern automated differentiation tools to derive the optimum parameter set, together with uncertainties and correlations. The proposed methodology was designed to allow the treatment of much larger data sets without reaching inhibiting computation costs. It was found that the experimental system coupled to the optimization methodology produces quite robust estimates for the parameters we looked for. However, the optimum decay rate of bacteria obtained by optimizing ASM1 (Activated Sludge Model n°1) could not be retained. Further tests with the new ASM3 model will be described in an companion paper.

Keywords : Acetate degradation, modelling, optimization, ASM1, primary sludge

1. Introduction

In many situations, organic matter is conceptually separated into fractions with homogeneous properties. This situation is typically encountered when a refined description of degradation is required: organic matter is distributed into various classes of degradability, whatever the model (multi-G model, Burdige, 1991, HSB model, Billen and Servais, 1998, ASM series models, Gujer et al., 1999, Henze et al., 2000) and the system of interest. Such fractionations are only relative since they depend on the framework which has been designed to obtain them, and it is most important to assess their robustness. Experiments mimicking a natural or industrial process lead to operational data which remain dependant on the way the experiment was scaled. More information can often be derived from experimental data when a model is used to analyse the results. Optimization procedures with an explicit objective function comparing experimental and model results should be used to derive the searched data which are typically model parameters or initial conditions characterizing the samples. The

optimization procedure as well as the model are part of the experiment when operationally defined data are to be obtained, they must also be carefully processed and described.

Oxygen Uptake Rates (OUR) measurements are typical experiments where data characterizing a sample are obtained more or less explicitly through the use of a model. OUR measurements have been much developed in the framework of the development of the ASM model series (Henze et al., 2000). It is noteworthy to mention that the ASM working group also proposes the experimental techniques to obtain the basic variables for use in the model, which illustrates again that obtaining data and modeling are highly connected activities, by several aspects. Deriving the so-called Readily Degradable Organic Matter (RDOM) from OUR data is based on two very important hypothesis : (i) the growth yield (Y) of bacteria is constant and known, which allows to compute organic matter from oxygen consumption data and (ii) a well-defined OUR plateau is observed after the initial fast consumption period, while other oxygen consuming processes are expected to remain constant during the first period, which allows to define which fraction of the observed OUR should be attributed to the fast consumption of RDOM. A simple integration of OUR, after plateau/blank elimination allows to compute oxygen consumption due to RDOM, and RDOM itself using the constant growth yield hypothesis. A conceptual model clearly lays behind the interpretation of OUR data. Care should be taken to fully understand its limits since experimental can poorly fit to the expected behaviour of OUR. Y for example, is a very basic parameter which cannot be directly estimated from OUR based experiments (Dochain et al., 1995), but needs reference to preliminary experiments where the amount of RDOM can be precisely measured. The position of the plateau after the phase of uptake at fast rate is also often poorly defined, specially when working with naturally complex samples (see for example Sollfrank and Gujer, 1991). While direct (graphical or regression) methods are subject to serious biases due to the oversimplified concepts they are based on, the process of deriving operational data from experimental data through the model itself will nevertheless bring relevant results and allow to define their uncertainties.

The purpose of this paper is to demonstrate the use of an efficient set of techniques to evaluate model parameters, initial values and their uncertainties. The well known model ASM1, with established parameters values, is used for demonstration.

2. Material and methods

2.1. Instrumentation

Thermally controlled 300 milliliters reactors were used at 20°C for the experiments, and mixed with magnetic rods. Dissolved oxygen was monitored by oxygen meters (YSI model

58 or model 52) connected to an A/D converter and data logger (CR2M-SAB600) or directly connected to the serial port of a computer. Oxygen probes were systematically dried and calibrated in water saturated air at 20°C before each experiment. Only very small deviations were observed between two successive calibrations. We observed in air saturated water that a correction (3 to 4% depending on the probe) had to be applied because of the insufficient water velocity in the vicinity of the probe. Much care was taken to maintain a constant stirring during the experiments. Oxygen sampling rate was 1 minute for most experiments.

2.2. Sludge preparation

Primary sludge was stored under constant stirring and air-bubbling during 2 to 5 days in order to reach an approximate plateau of oxygen consumption and a highly homogeneous liquor (Figure 1). The sludge was collected from the Noisy-le-Grand WWTP primary settler (≈ 100000 inhabitant-equivalent, combined sewers). We assume that the plateau occurs after the degradation of quickly degradable dissolved and particulate organic matter initially contained in the primary sludge. During the plateau, OUR is assumed to be mainly maintained by the slow hydrolysis of a large stock of particulate slowly degradable organic matter.

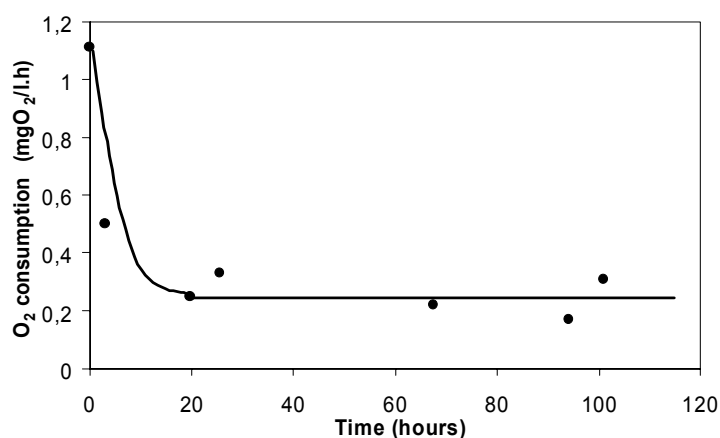


Figure 1 : A typical evolution of OUR in the primary sludge measured after dilution 1:7.

In order to inhibit the nitrification, about 10 mg.L⁻¹ of TCMP (2-chloro-6-(trichloromethyl)pyridine), the nitrification inhibitor provided by HACH company (formula 2533TM) were systematically added to the primary sludge during aging. Additional experiments were made in order to test whether an additional TCMP addition directly in reactors after sludge dilution was of any use. We never found any difference between OUR measured in dilutions of aged

primary sludge in reactors, with or without addition of TCMP in reactors. This suggests that nitrification is highly limited in reactors, probably because the development of nitrifiers in the sludge had been efficiently reduced. We also added ammonium salts to reactors, and did not observe any difference in OUR between ammonium amended samples and blanks, which proves that nitrification, if any, is already saturated by ammonium brought by sludge dilution. It should be noted that, compared to activated sludge commonly used in OUR experiments, primary sludge is much younger, and that nitrifiers initial development is likely much lower.

2.3. Preparation of dilutions

The method, denoted as the single-OUR method (Xu et al., 1996), is based on the monitoring of oxygen concentrations in a reactor containing mainly biomass and the water to test, plus sludge sub-products. An advantage of the method proposed by Xu et al. (1996) is its good potential for waters with a low COD contents such as river water. All dilutions were made with commercially available spring water with a low dissolved organic carbon content (about 0.4 mg.L^{-1}) and presumably zero RDOM, while providing a sufficient content in major salts to avoid bacteria disruption. Tap water was not used because of its bactericide sodium hypochlorite content. The supernatant in aged primary sludge is made of waste water (including ammonium, urea and dissolved phosphate from washing powders) and also includes nutrients released by the degradation of particulate organic matter during the first days. Simple balances show that these nutrients are in large excess compared to acetate added during experiments. Accordingly, we decided not to add any nutrient to the batches. Acetate was added as sodium salt.

2.4. Strategy for the estimation of model parameter and initial values of variables

Experimental results are sets of oxygen data series obtained for various dilutions of an aged batch of primary sludge, eventually completed by known addition of acetate. As usual, parameter and initial values estimation will be made by minimizing a cost function (J) computed as the sum of squares of differences between observed and simulated oxygen data.

The ordinary differential equation (ODE) describing the system may be written as :

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dx}{dt} = M(p, x, t); \\ x(0) = x_0 \end{array} \right. \quad (1)$$

defined over a time interval $]0, T[$, where $p \in IR^P$ are the parameters and $x_0 \in IR^N$ are the initial conditions for variable x .

Starting from initial guesses on parameters and initial values, an optimization method such as a conjugated gradient or a quasi-Newton method is able to descend along J until its minimum is reached. To be efficient, these algorithms need fast and precise estimations of the gradient of J (∇J), which is a major numerical problem, and will be discussed in the following section.

The function to minimize may be written

$$J(p, x_0) = \frac{1}{2} \int_0^T \langle W(Cx(t) - x^{obs}), (Cx(t) - x^{obs}) \rangle dt \quad (2)$$

where the symbol C is used to denote linear operator that maps the continuous space into the discrete space of observed data and where $x(t)$ is the solution of the Ordinary Differential Equation (ODE) system describing the model, with parameters p and initial values x_0 . W is a weighting matrix often taken to be the inverse of covariance matrix of measurement.

2.5. Computing the gradient of J

During the last three decades, a growing interest for optimal control theory has been developed in a large number of research fields. Nowadays such methods are commonly in use for the solution of large scale problems (millions of unknowns) arising in meteorology for example. Using optimal control theory we construct a computer tool that enables to prescribe various constraints, to deal with a large number of parameters and initial conditions, and to change the biological ODE model in an « easy » manner. Some pieces of optimal control theory and some aspects of computing are presented in the sequel to illustrate our purposes.

Differentiation of (2) leads to the *tangent linear system* whose input data are the vector of parameter p , the initial state x_0 and a perturbation term $(\delta p, \delta x_0) \in IR^{P+N}$

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d(\delta x)}{dt} = \left[\frac{\partial M}{\partial x}(p, x, t) \right] \delta x + \left[\frac{\partial M}{\partial p}(p, x, t) \right] \delta p, \quad \forall t \in]0, T[\\ \delta x(0) = \delta x_0 \end{array} \right. \quad (3)$$

Computing the solution δx allows to compute the component of ∇J in the direction $(\delta p, \delta x_0)$.

The computation of all the components of ∇J requires forward evaluations of the $P+N$ ODE given by the tangent linear system. The same number of computations is necessary for the less precise solution consisting in estimating the gradient using finite differences on J .

Let $(\hat{p}, \hat{x}_0)$ be the solution of the *adjoint system*

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{d\hat{x}}{dt} + \left[\frac{\partial M}{\partial x}(p, x, t) \right]^* \hat{x} = C^* W(Cx(p, t) - x^{obs}(t)) \\ \hat{x}(T) = 0 \end{array} \right. \quad (4)$$

One proves (see Wang et al., 1992) that the gradient of J is given by

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial J}{\partial x_0}(p, x_0) = -\hat{x}(0) \\ \frac{\partial J}{\partial p}(p, x_0) = -\int_0^T \left[\frac{\partial M}{\partial p}(p, x, t) \right]^* \hat{x} dt \end{array} \right. \quad (5)$$

The computation of all the components of ∇J requires one (backward) evaluation of ODE given by the adjoint system (4) to obtain the derivatives vs p and x_0 . Moreover theoretical results (Morgenstern, 1985) indicate that, for any code, the ratio between the number of operations of the adjoint code and the number of operations of the direct code is lower than 5 i.e. the CPU cost is independent of the dimension of the input space. From a computational point of view, the adjoint code is integrated backward in time along a trajectory which is formed of all the values of the variables of the direct code (Griewank, 2000).

2.6. Practical implementation

We use the quasi-Newton optimizer L-BFGS-B (version 2.3, Byrd et al., 1995, Zhu et al., 1994) which allows the solution of optimization problems with bounds imposed on variables to optimize. The original code that solves (1) and (2) is written in FORTRAN 77. We choose the automatic differentiator Odyssee (Faure and Papegay, 1998) in order to construct the linearized code. The software enables to generate FORTRAN 77 codes that allow for the evaluation of the gradient components. Automated differentiation techniques are now well documented, and the reader is referred to the Odyssee's bibliography and the references herein to obtain a complete description. Differentiators numerically extend the adjoint system theory. They are able to produce a secondary code even when the direct system is not a simple ODE but any (complex) succession of step instructions making the FORTRAN code. As the theory briefly explained above describes the adjoint system to a direct ODE system, the differentiator is able to produce an adjoint code to any direct code using a flow reversal algorithm equivalent to the backward integration of ODE system (4) and (5).

It was found that scaling all parameters into a similar range of variability highly improved the efficiency of L-BFGS-B. Finally, once the minimum has been reached (J_0) the matrix of the second derivatives of J is an estimate of the inverse of the covariance of parameters given the

a priori distribution of errors in matrix R (Thacker, 1989). To simplify the problem, we considered that all errors were normal, independent and with a unique but unknown variance, σ^2 . The procedure is as follows: W is first set to identity, J_0 appears as a realization of the sum of squares of n identical normal random variables and gives an estimate of the variance of errors (including errors on measurements, possibly on model outputs...), which allows to apply a correction on W to a posteriori identify W and R , and to obtain a proper estimate of the covariance matrix of errors on parameters from the second derivatives of J .

Figure 2 shows how the computations were made.

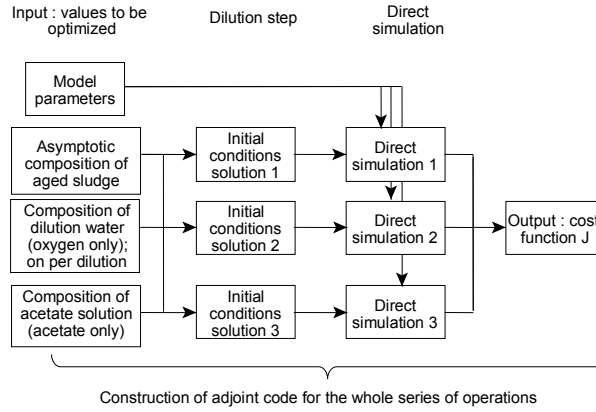


Figure 2: Computation sketch from the variables in mother solutions to the final cost function computed after resolving model ODE starting from daughter solution

3. Results

3.1. Primary sludge dilution

Blank experiments (i.e. sludge and mineral water only) were made with different sludge dilutions (3/350 (v:v), 15/350, 50/350 and 100/350). OUR remained constant during the experiment whatever the dilution (constant oxygen slopes). Moreover, the OUR was very well correlated with the dilution (Figure 3). This suggests that one experiment only is enough to characterize the background, whatever the final dilution in all experiments.

Epifluorescence data can be compared with OUR in blanks. Several blank experiments were performed on primary sludge sample taken on different days from Noisy WWTP, the ratio

between epifluorescence based biomass and blank OUR is about $0.04 \pm 0.01 \text{ mg.h}^{-1}.\text{mg}^{-1}$, where biomass is in COD units. This allows to roughly estimate the amount of biomass from blank OUR data and further check the coherence of biomass estimates obtained by model calibration.

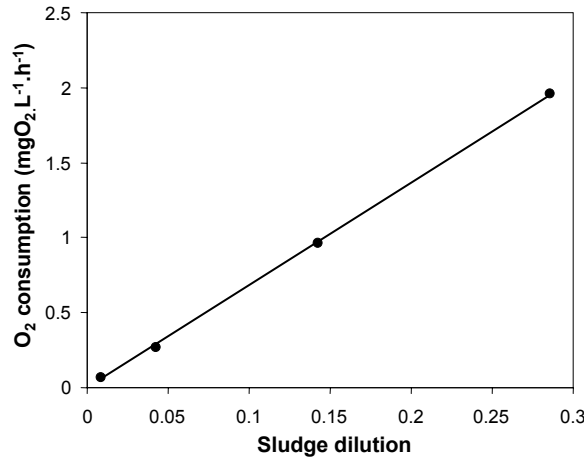


Figure 3 : OUR versus dilution of sludge. Evidence for the simple dilution of endogenous OUR with aged primary sludge dilution.

3.2. Acetate degradation with variable S/X ratio: growth rates and growth yields estimates

A constant amount of acetate (S) of 4.8 mg.L^{-1} as COD was added to different biomass concentration obtained by dilutions of 15/350 (v/v), 50/350 and 100/350 of the aged primary sludge. A blank dilution with no acetate added was made from the same sludge at a dilution of 15/350. Given the observed blanks, S/X estimates based on biomass estimation by epifluorescence vary from 0.1 to 0.9, which is the low to medium range compared to the standard literature on OUR in waste water.

Oxygen was continuously measured (time step of one or half a minute, data acquisition at a precision of $\pm 0.01 \text{ mg/L}$) during the following 8 hours or until 2 mg.L^{-1} oxygen was reached. Graphs in Figure 4 represent the evolution of oxygen concentration versus time. OUR data are shown in Figure 5 and following figures together with simulation results. OUR was computed

as $OUR(t_i) = \frac{Oxyg(t_{i+5}) - Oxyg(t_{i-5})}{t_{i+5} - t_{i-5}}$, with a time step of 10 minutes. A first high OUR

period (phase I) is observed followed by a plateau (phase II), as already reported for single OUR measurements (Xu and Hasselblad, 1996) and for more standard so-called "multiple OUR" with continuous or pulse aeration (Spanjers et al., 1998, Ubay Cokgor et al., 1998). However, like Sperandio and Paul (2000) with pure waste water at high S/X ratio and like Krishna and Van Loosdrecht (1999) at lower S/X (c.a. 0.3) with acetate feeding in sequencing batch reactors, an increase of OUR is observed during phase I, which is not commonly reported (Orhon et al., 1997) or usually less significant in standard OUR experiments at low S/W ratio. At high S/X, the significant biomass growth needed to degraded the large amount of substrate added is likely to explain the observed increase of OUR during phase I, and has been used to estimate the growth rate (Vollersten and Hvitved-Jacobsen 1998, Sperandio et Paul, 2000). The basic hypothesis is that acetate uptake and subsequent OUR are proportional to biomass under saturating substrate conditions.

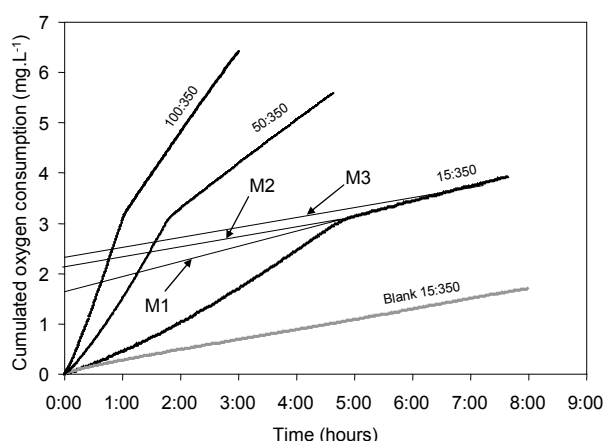


Figure 4: Oxygen consumption after acetate addition for three sludge dilution and graphical methods for the computation of integrated oxygen consumption. Intercept of M1 with time zero axis gives the oxygen consumption when the blank OUR is estimated from OUR during phase II ; M2 uses real blank OUR, without any acetate addition ; M3 also uses real blank OUR but assumes that some of the oxygen consumption during phase II is due to acetate addition

Growth rates estimates

Table 1 details the experimental data that can be used to derive growth rates. According to the hypothesis that the increase of OUR during phase I, under mostly saturating substrate conditions, is due to biomass growth, we can estimate growths of 66%, 97% and 135% for the

three dilutions (column 1). Under low substrate conditions, OUR should mainly be proportional to endogenous respiration, and to the amount of biomass. Accordingly, column 2 in Table 1 compares endogenous respiration before and after substrate addition, and leads to biomass increase estimates of 19%, 27% and 42%, for the three dilutions. The discrepancy between both estimates of biomass is very strong (more than a factor of three) for the three dilutions. It is highly unlikely that the endogenous respiration per unit biomass after feeding with acetate be lower than the respiration before feeding. Then a more likely hypothesis to explain the discrepancy would be that the increase of OUR during phase I is higher than the increase of biomass and may be due to some kind of adaptation of biomass.

Data presented in Table 1 can also be examined another way. Columns 3 and 4 present the ratio of the maximal OUR for biomass under quasi-saturating acetate conditions and under famine conditions. Column 3 refers to the beginning of the experiment, and column 4 to the end of phase I. The ratio increases from 1.61 ± 0.08 to 2.37 ± 0.31 from the beginning of the experiment to the end of phase I. We could conclude, under a constant yield hypothesis, that bacteria became more efficient acetate consumers after being in contact with acetate. Moreover, the gain in efficiency increases with contact time (i.e. at lower sludge dilution).

Sludge Dilution	Approximate S/X	(1) max/start	(2) plateau/blank	(3) start/blank	(4) max/plateau
100/350	0.13	1.66	1.19	1.56	2.11
50/350	0.26	1.97	1.27	1.57	2.31
15/350	0.86	2.35	1.42	1.71	2.71

Table 1: Comparison between blank OUR before and after acetate addition, and acetate-saturated OUR and blanks. “Plateau” is the average OUR during the two first hours in phase II. “Blank” is the expected OUR before acetate addition. “Max” is the maximum OUR at the end of phase I. “Start” is the OUR at the beginning of phase I, after acetate addition.

Yield estimates

The usual graphical procedure used to compute OUR after substrate addition assumes that the phase II OUR can be considered as a blank endogenous OUR to be subtracted from the total oxygen consumption to obtain the excess oxygen uptake due to substrate addition. The methodology described in Figure 4 (M1) was applied here: two hours plateau value were used to compute the regression line leading to the blank intercept at time zero. It can easily be shown that this method is exactly equivalent to the integration of OUR data. The growth yield

(Y) obtained for each experiment were 0.750, 0.749 and 0.745 respectively for sludge dilutions of 100/350, 50/350 and 15/350.

Using the blank OUR before acetate addition is another possibility to compute growth yield, as shown in Figure 4 (M2). Obtained growth yields are slightly reduced to 0.742, 0.735 and 0.705. A third hypothesis is to consider that the excess plateau OUR compared to the initial blank is a delayed oxygen consumption which should be taken into account in the calculation of yield. It is difficult to estimate the length of the episode with excess plateau consumption, we assumed two hours (Figure 4, M3). Resulting growth yields are : 0.728, 0.717 and 0.692. Dircks et al. (1999) reported similar values of 0.70, also based on graphical estimates. These changing estimates for Y , a most important and controversial parameter, starting from a unique data set is clearly an unsatisfying situation. We suspect that the reported literature data also suffer from the same sources of uncertainties. Using a model would be a more satisfying and controllable way of deriving information from a data set while keeping into the well-defined limits set by the model itself.

The above reported difficulties to estimate growth rate and yield, and the need to start with some hypothesis about the processes behind the data, before deriving any quantitative information, shows that a coherent modeling framework is first needed to estimate such parameters and additionally derive relevant estimates of uncertainties.

3.3. Estimates based on ASM1

The model is presented in Table 2, using the IWA-like presentation (Henze et al., 2000).

Component $i \rightarrow$	1	2	3	4	5	6	7	
Process $j \downarrow$	S_I (COD)	S_S (COD)	X_I (COD)	X_S (COD)	$X_{B,H}$ (COD)	X_P (COD)	S_O (O ₂)	Process Rate, ρ_j [ML ⁻³ T ⁻¹]
1 Aerobic growth of heterotrophs		$-\frac{1}{Y_H}$			1		$-\frac{1-Y_H}{Y_H}$	$\hat{\mu}_H \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S} \cdot X_{B,H}$
2 Decay of heterotrophs				$(1-f_p)$	-1	f_p		$b_H \cdot X_{B,H}$
3 Hydrolysis of entrapped organics		1		-1				$k_H \cdot \frac{X_S / X_{B,H}}{K_X + X_S / X_{B,H}} \cdot X_{B,H}$

Table 2 : Process kinetics and stoichiometry for organic carbon oxidation in ASM1.

ASM1 uses standard Michaelis formulations to simulate readily degradable substrate assimilation, with a constant growth yield. Bacterial decay does not directly consume any

oxygen but produces degradable organic matter (X_S) which will cause delayed oxygen consumption when assimilated.

Initial conditions

All parameters and initial conditions values are estimated simultaneously through a single optimization taking into account all experimental data at once. In addition to the ASM1 parameters, the variables to optimize are the initial conditions in all solutions (acetate mother solution, aged primary sludge and mineral water used for dilutions). Of course, some of these variables are known, and the following hypotheses were made:

- (i) All variables (concentrations) are known in the acetate mother solution: zero everywhere except the known acetate concentration as S .
- (ii) All concentrations were set to zero in the mineral water used for dilutions except oxygen, which is kept free. One mineral water sample with possibly different oxygen concentration is used for each experiment, to take into account uncontrolled initial oxygen concentrations.
- (iii) Additional assumptions were made regarding the aged primary sludge, which depend on the unknown parameter values as explained hereafter.

Concentrations in the aged primary sludge cannot be chosen randomly, since the result from the aging process. Our observation is that OUR in sludge during aging is rather constant during several days (Figure 1). However, the (heterotrophic) processes described in ASM1 continuously consume degradable organic matter (DOM), including bacteria, in such a way that long term constant OUR is completely unlikely in a closed system. It can be shown that the only asymptotic behaviour of the system is zero bacteria, zero OUR and zero DOM. Accordingly, we made the assumption that the system was continuously fed by the production of X_S from a pool of slowly degradable DOM, issued from the particulate fraction of sewer water concentrated in primary sludge. This flux is called FX_S , it allows to reach an asymptotic state of the system with non zero OUR. Stating that all derivatives are zero leads to the relations linking the variables presented in Table 3.

$$S_S = K_S \cdot \frac{b_H / \mu}{1 - b_H / \mu} \quad (a); \quad X_S = X_H \cdot K_X \cdot \frac{b_H / Y_H / k_H}{1 - b_H / Y_H / k_H} \quad (b); \quad FX_S = b_H \cdot X_H \cdot (1/Y_H - (1 - f_d)) \quad (c);$$

Table 3: Asymptotic relations between variables in ASM1.

Since they depend on one unknown only, the observed blank OUR should be able to fully define the initial composition of the aged sludge for all variables. According to equations in Table 3, any set of parameters may not be valid, since S_S , X_S and FX_S must be positive. μ must be higher than b_H , which was expected meaning that bacteria must be able to grow at least under saturation S concentration. Also, b_H must be lower than $Y_H \cdot k_H$, which means that bacteria must be able to grow under saturating X_S conditions. It should be pointed out that defining initial conditions characterising the aged primary sludge and computing model parameters are not independent actions since the initial sludge composition also depends on the model parameters as shown in Table 3. Because of these complex interactions between estimates, the optimisation process must be run as one single blow, which is manageable using the procedure described in section 2.5 and following. The objective function to be minimised is made of the sum of squares of observed minus simulated oxygen data. For higher clarity, results will be presented as OUR data.

Discussion of optimum parameter values

Technically, a lower limit had to be set to K_S , to limit consumption rates of S still occurring for very low values of S , which would highly reduce the computation time steps to avoid numerical errors, and increase the computation length. With 282 oxygen values selected every five minutes the optimum cost function was 0.136, which gives a low variance for oxygen data (standard deviation = 0.022 mg.L⁻¹) and suggests that the model is good. Simulated results are presented in Figure 5. Parameter estimates and ranges of magnitude are given in Table 4, where so-called “95% confidence interval” are approximated by twice the standard deviation, which is a reasonable approximation assuming a normal distribution. Several parameters are very well defined by the set of experiments we conducted. Growth yield in particular has a value of 0.635 ± 0.002 , which is significantly lower than what was found following the graphical method previously described, also lower than the suggested value ASM1 (i.e. 0.67, Henze et al., 2000), but quasi-identical to the proposed value in the more recent version AMS2, which is based on the same concepts as ASM1 regarding the OM loop (hydrolysis, assimilation and bacterial decay).

Examining in detail the model behaviour permits to better assess the origin of errors in former procedures. All graphical estimations, either following the single-OUR method (Xu and Hasselblad, 1996) or the more traditional integral method proposed by Ekama et al. (1986) assume that the base-line obtained after phase I can be used to compute the excess oxygen consumption due to acetate addition. However, a fraction of the base-line OUR obtained after

acetate addition is due to an increase of biomass due to acetate addition, and should certainly not be removed from the integral OUR to compute the yield. Graphical estimates (method M1) lead to a double error. Firstly, the substrate that has been incorporated into biomass and is already consumed during the course of the experiment is not accounted for in the uptake by bacteria. Secondly the excess endogenous respiration due to biomass growth is erroneously considered in the blank. The optimisation we ran with ASM1 shows these errors lead to an overestimation of Y_H as high as 0.10 to 0.11. Corrected graphical methods (M2 or M3) still overestimate Y_H by 0.04 to 0.10.. Accordingly, growth yields reported in the literature for acetate, and most generally obtained by graphical procedure are higher than the optimum value reported here (Xu and Hasselblad, 1996, Ziglio et al., 2000, Dircks et al. 1999). It is likely that such overestimation of growth yield by graphical methods is not specific to acetate, estimation procedure based on whole model optimisation should preferably be used whatever the substrate.

	Y_H	μ (h^{-1})	K_S ($mg.L^{-1}$)	b_H (h^{-1})	k_H ($mg.L^{-1}.h^{-1}$)	K_X	f_d	X_{H0} ($mg.L^{-1}$)	J
Best estimate	0.635	0.307	0.01	0.145	0.234	0.002	0.240	58.6	0.136
“90% confidence interval”	± 0.002	± 0.006	Fixed	± 0.003	± 0.006	± 0.001	± 0.022	± 1.1	-

Table 4: Parameter estimates for ASM1.

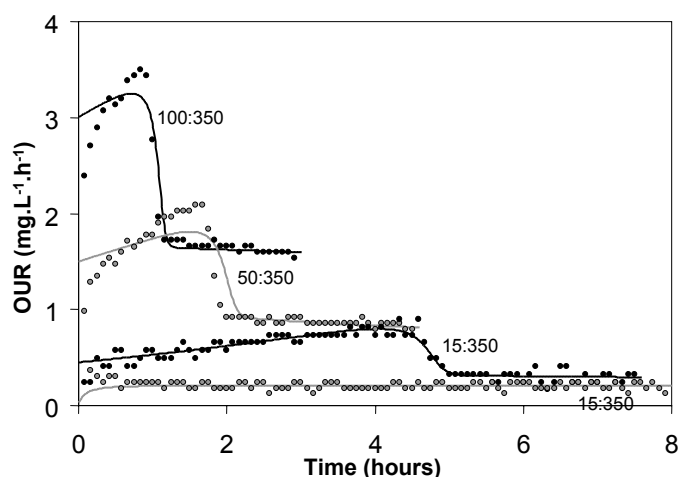


Figure 5 : Simulated OUR after optimisation with ASM1 (lines) and experimental data for various dilutions (dots).

Other parameters (μ , k_H , f_d) have reasonable values compared to reported values (Henze et al., 2000), but endogenous mortality (b_H) is about 3.5 d^{-1} (0.145 h^{-1}), which is very high compared to literature values.

Correlation between parameters are given in Table 5, which shows an expected strong correlation between growth and mortality, since both processes mostly compensate each other. Their correlation with biomass in sludge (X_{H0}) or the maximum rate of hydrolysis (k_H) is due to the asymptotic relations in aged sludge. Equation (b) in Table 3 shows that k_H and b_H are positively correlated and equation (c) in Table 3 shows that b_H and X_{H0} are negatively correlated.

	Y_H	μ	b_H	k_H	K_X	f_d	X_{H0}
Y_H	1.000	0.607	0.663	0.434	-0.108	-0.379	-0.241
μ		1.000	0.989	0.915	0.294	0.072	-0.912
b_H			1.000	0.931	0.329	0.084	-0.874
K_H				1.000	0.637	0.364	-0.896
K_X					1.000	0.772	-0.409
f_i						1.000	-0.286
X_{H0}							1.000

Table 5: Correlation coefficients between estimated parameters for ASM

The experiments were not designed to provide information on the degradation of slowly degradable products since acetate only was added in known quantities to the system. It may then seem strange that k_H be so well defined by the experiments and the model (Table 4). However, it can be checked that K_X is much lower than X_S/X_H in the blank. Accordingly, hydrolysis is almost proportional to biomass, and once b_H , and Y are fixed by the dynamics observed after acetate addition, k_H is controlled by the flow of oxygen in the blank where all terms must balance biomass decay and keep proportional to biomass (Table 3). Finally note that since K_X is poorly defined, the asymptotic value of X_S is also very poorly defined, and that k_H is the only parameter or variable related to hydrolysis well defined by the experimental set.

We attempted to force b_H to a more acceptable and reduced value. As expected from correlation values shown in Table 5, forcing a lower value for b_H , by modifying its allowed boundaries, tends to lower the optimum values for Y_H , μ , and k_H , while increasing those of K_X and f_d . b_H could not be reduced to a value lower than 0.12, where the optimum f_d reached the

maximum possible value of 1. We attempted to reduce again b_H while keeping f_d at a more acceptable value below 0.3. With $b_H=0.01 \text{ h}^{-1}$ (0.24 d^{-1}), the optimum Y_H became as low as 0.16 and μ was 0.04 h^{-1} , both values significantly too low compared to literature data. The cost function increased to 15, compared to 0.136 previously reached, meaning a very poor quality of the model with the lower b_H value.

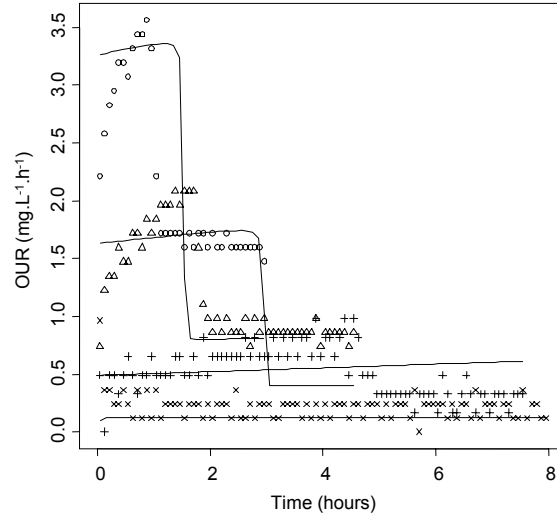


Figure 6 : Simulation with k_b forced at 0.01 h^{-1} . Open circles : 100:350 sludge dilution, open triangles: 50:350 dilution, plus : 15:350 dilution, crosses : 15:350 blank

Following ASM1, acetate (i.e. S) is directly used for bacteria growth. Accordingly, acetate uptake, oxygen consumption due to growth and growth are proportional, which defines the so-called growth yield (Y_H). The increase in OUR observed during phase I, under saturating S conditions, should be proportional to an increase in biomass, and the increase of endogenous respiration after acetate exhaustion should also be proportional to the increase of biomass, with a possible delay due to the recycling of X_S . As already shown in Table 1, our experiments do not agree with such inferences, and ASM1 naturally fails to fit both increases. High b_H values, are needed to simulate the decrease of OUR during phase II, which lead to unrealistic estimates of mortality rates.

At least two additional processes can be invoked to explain these discrepancies: (i) some storage process may occur which could explain the excess consumption of stored product during phase II and/or (ii) the biomass may need some progressive adaptation to assimilate acetate at the higher rate, which would explain a somewhat too slow start-up of OUR

immediately after acetate addition. The new ASM3 version can be used to estimate parameter values for the first of these processes, which will be presented in the companion paper (Dispan et al., submitted).

4. Conclusion

A methodology was developed to assess model parameters for biological degradation models. Modern tools to compute gradients fast and accurately were used to obtain reliable parameters values as well as their confidence interval and correlation coefficients. The automated differentiation procedure makes it quite easy to proceed with the development of the codes for the exact computation of the gradient and hessian of the cost function. The hessian in particular provides estimates of the variance and correlation of parameters.

Data were obtained from oxygen uptake experiments. The most simple "single OUR" technique was used. An important point was to vary the so-called substrate over biomass ratio to widen the range of application of the model, including a blank (zero S/X). All experiments were conducted with the same homogenised pool of biomass, which reduced the number of unknown in the system.

By using a primary sludge to feed the reactors with biomass, we attempted to start from more steady conditions than what could be reached for pure secondary sludge because of the input of slowly degradable matter from the waste water solids. This allowed to establish a priori asymptotic relations between variables in the primary sludge and significantly simplify the set of initial conditions.

Most parameters in ASM1 could be precisely be derived with a very good precision (i.e. narrow confidence intervals). This results from two necessary characters of a mathematically well-designed model: (i) simulated results must pass through the data points to reduce the observation variance, and (ii) parameters must not be too much correlated.

However, once optimum parameters were mathematically well defined, the solution was yet not satisfying since a distortion can be obtained, where an unrealistic parameter value for the bacteria decay rate was optimised to fit to a conceptually poorly defined process. Forcing more realistic values led to a failure of the model which clearly pleads for a non-blind use of the (necessary) mathematical techniques and for model improvements such as those proposed in ASM3.

As a concluding remark, we wish to insist on the fact that graphical estimates and estimates obtained by model optimisation did not lead to the same result, at least for the most important parameter Y_H . Although rather simple, lumped ecological models like ASM1 already

incorporate interactions and backward effects which make it impossible to unambiguously derive parameters from a simple graphical treatment or transformation of experimental data.

References

Billen G. and Servais P., 1989. Modélisation des processus de dégradation de la matière organique en milieu aquatique. In "Micro-organismes dans les systèmes océaniques", Bianchi et al. eds., Masson, Paris, pub. pp 215-245.

Burdige D.J. (1991). The kinetics of organic matter mineralization in anoxic marine sediments. *Journal of Marine Research*, **49**:727-761.

Byrd R.H., Lu P., Nocedal J. and Zhu C. (1995). A limited memory algorithm for bound constrained optimization, SIAM J. *Scientific Computing* **16**(5):1190-1208.

Dircks K., Pind, P. F., Mosbaek, H. and Henze M. (1999). Yield determination by respirometry – The possible influence of storage under aerobic conditions in activated sludge. *Water SA*, **25** (1), 69-74.

Dochain D., Vanrollenghem P.A. and Van Daele M. (1995). Structural identifiability of biokinetic models of activated sludge respiration. *Water Research*, **29**(11):2571-2578.

Ekama G.A., Dold P.L. and Marais G.v.R. (1986). Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems. *Water Science and Technology*, **18**:91-114.

Faure C. and Papegay Y. (1998). Odyssee User's guide. Version 1.7. Rapport technique n°0224, INRIA, pp 81.

Griewank A., 2000. Evaluating derivatives : principles and techniques for algorithmic differentiation #19. *Frontiers in Applied Mathematics*, SIAM, Philadelphia, Penn, USA.

Gujer W., Henze M., Mino T. and Van Loosdrecht M.C.M. (1999). Activated sludge model No.3. *Water Science and Technology*, **29**(1):183-193.

Henze M., Gujer W., Mino T. and Van Loosdrecht M.C.M. (2000). Activated sludge model No.3. in "Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3" edited by the IWA task group on mathematical modeling for the design and operation of biological wastewater treatment. IWA Publishing, pp 121.

Krishna C. and Van Loosdrecht M. C. M. (1999). Substrate flux into storage and growth in relation to activated sludge modeling. *Water Research* **33**(14), 3149-3161.

Morgenstern J., 1985. How to compute fast a function and all its derivatives, a variation on the theorem of Baur-Strassen. *SIGACT News*, vol 16, 60-62.

Orhon D. and Cokgör E. U. (1997). COD fractionation in Wasterwater Characterization – The State of the Art. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **68**, 283-293.

Sollfrank U. and Gujer W. (1991) Characterization of domestic wastewater for mathematical modelling of the activated sludge process. *Water Science and Technology* **23**:1057-1066.

Spanjers H., Vanrolleghem P., Olsson G. and Dold P. (1998). Respirometry in control of the activated sludge process. IWA Scientific and Technical Report No.7, pp 48.

Spérandio M. and Paul E. (2000) Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various S0/X0. *Water Research* **34**, 1233-1246.

Thacker W.C. (1989). The role of hessian matrix in fitting models to measurements. *Journal of Geophysical research*, 94-C5:6177-6196.

Ubay Cokgör E., Sözen S., Orhon D. and Henze M. (1998). Respirometric analysis of activated sludge behaviour. I. Assessment of the readily biodegradable substrate. *Water Research*, 32(2):461-475.

Vollersten J. and Hvutved-Jacobsen T. (1998). Aerobic microbial transformations of resuspended sediments in combined sewers - a conceptual model. *Water Science and Technology*, **37**(1):69-76

Von Münch V.E. and Pollard P.C. (1997). Measuring bacterial biomass-COD in wastewater containing particulate matter. *Water Research*, 31(10):2550-2556.

Wang Z., Navon I.M., Le Dimet F.X. and Zou X. (1992). The second order adjoint analysis: theory and applications. *Meteorology and atmospheric physics*, 50:3-20.

Xu S. and Hasselblad S. (1996) A simple biological method to estimate the readily biodegradable organic matter in wastewater. *Water Science and Technology* **30**, 4, 1023-1025.

Zhu C., Byrd R.H., Lu P., Nocedal J., 1994. L-BFGS-B: a limited memory FORTRAN code for solving bound constrained optimization problems', Tech. Report, NAM-11, EECS Department, Northwestern University.

Ziglio G., Andreottola G., Foladori P. and Ragazzi M., 2000. Experimental validation of a signe-OUR method for wastewater RBCOD characterization. Paris 2000, 1st IWA congress. 259-266.

ARTICLE 2

Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge : II. A modeling study using ASM3. (Soumis à Water Research).

Jérôme Dispan¹, Jean-Marie Mouchel¹, Isabelle Charpentier² and Pierre Servais³

¹ CEREVE-ENPC, 6-8 av. Blaise Pascal, 77455 Marne-La-Vallée Cedex, France

² LMC-IMAG, 51 rue des Mathématiques, Project IDOPT, B. P. 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France

³ ESA, Université Libre de Bruxelles, CP221, boulevard du Triomphe, 1050 Bruxelles, Belgique

Abstract

Experiments were conducted to revisit the degradation of acetate by Waste Water Treatment Plant (WWTP) sludges. Their design allowed to minimize the number variables (initial conditions) to determine, while considering variable S/X ratio (substrat over biomass) to improve the quality of the data set. An analysis of parameters correlations was made in ASM3. Parameters related to the slow degradation were freeze because their optimization led to non-physical solutions and furthermore the problem is better-determined. Decoupling between assimilation and growth introduced in ASM3 allowed to solve the problem of the too much high decay rate value encountered in ASM1 without introducing a lot of additional uncertainty in estimates due to increased correlation between the larger number of parameters. Finally, a modified version of ASM3 is proposed in order to overcome the coupling between phase I and phase II of the OUR.

Keywords : Acetate degradation, modelling, optimization, ASM3, primary sludge

1. Introduction

This work can be placed into the framework of the production of integrated models which is required to globally optimize the management of sewer networks and waste water treatment plants –WWTP- (Harremoës, 1997, Somlyody et al., 2000). This implies that sewer models, WWTP models and rivers (or lake, coastal seas) models work together and are able to exchange data. This again implies that the procedure to obtain data, including the models lying under the derivation of operational data, should be adapted and compared between several environments. The standard OUR experiment is designed with a low ratio of added RDOM over biomass (say substrate over biomass S/X ratio about 0.1) representative of organic matter degradation conditions in WWTP (Grady et al., 1996). In rivers, the amount of biomass is much lower compared to potentially degradable organic matter ; Garnier et al. (1992) for example found an S/X ratio about 10 in river Seine downstream a larger WWTP

outfall. Sperandio and Paul (2000) show that important information on the partitioning of COD can be obtained by combining standard low S/X experiments with high S/X experiments: High S/X experiments were made without any sludge addition to the tested wastewater, i.e. with the same degradable COD but a much different biomass, and model parameters were modified to adjust data from low and high S/X experiments. Liu et al. (1998) and Liu (2000) explain that lower growth yield observed as the S/X ratio increases are due to energy spilling by bacteria in rich environments (high S/X). Accordingly, it seems unclear whether models currently used can really stand changing S/X conditions, while environmental S/X ratio are highly variable.

Since acetate is the most used reference substrate (with glucose), the purpose of this paper is to study OUR during acetate degradation, at various S/X ratio. ASM models are used to analyse the data, no other implicit hypothesis are made. Experimental data are treated all together in order to widen the range of validity of parameters.

This paper is the continuation of a first part (Dispan et al., submitted) in which a methodology was developed to assess model parameters for biological degradation models. In this first part, we pointed out the difficulties to estimate growth yield graphically and we showed that a coherent modeling framework is needed to estimate a such parameter and derive relevant estimates of uncertainties. The ASM1 model, with established parameters values, was used for demonstration. ASM1 failed to fit OUR data. Furthermore the decay rate of bacteria obtained while optimizing ASM1 could not be retained. In this second part, the same methodology is used with the more complex and recent model ASM3.

2. Material and methods

2.1. Instrumentation and sludge preparation

Instrumentation and methodology have been described in detail in a companion paper (Dispan et al., submitted). We only present a shortened description here. The method we used, denoted as the single-OUR method (Xu et al., 1996), is based upon the monitoring of oxygen uptake rate (OUR) in a reactor containing mainly biomass and the pre-filtered water to test at 20°C. The primary sludge used as source of biomass was stored under constant stirring and air-bubbling during 2 to 5 days in order to reach an approximate plateau of oxygen consumption and a highly homogeneous liquor. Nitrification was inhibited. We assume that the plateau occurs after the degradation of quickly degradable dissolved and particulate organic matter initially contained in the primary sludge. During the plateau, OUR is assumed to be mainly maintained by the slow hydrolysis of a large stock of particulate slowly degradable organic

matter. Accordingly, we made the assumption that the system was continuously fed by the production of X_S from a pool of slow DOM, issued from the particulate fraction of sewer water concentrated in primary sludge. This flux is called FX_S , it allows to reach an asymptotic state of the system with non zero OUR, which can be precisely computed

2.2. Strategy for the estimation of model parameter and initial values of variables

Experimental results are sets of oxygen data series obtained for various dilutions of an aged batch of primary sludge, eventually completed by known addition of acetate. Parameter and initial values estimation will be made by minimizing a cost function (J) computed as the sum of squares of differences between observed and simulated oxygen data. Variances and correlations of estimated parameters were computed too.

2.3. Biomass estimation

In a primary sludge, it is impossible to compute biomass (X_H) from COD of MVSS because of the large amount of residual particulate organic matter which would interfere. Consequently, biomass was estimated by epifluorescence microscopy. After collection, the samples were preserved in 2% formaldehyde and they were stored at 4°C until analysis. Diluted sludge samples were spiked with DAPI (4,6-diamino-2-phénylindole), a DNA specific fluorochrome, following a procedure slightly modified from Porter et Feig (1980). After sonication during 45 seconds, a sample of 67 μL was brought to 1 mL with 0.22 μm filtered water, stained for 30 min with a large excess of DAPI (1 ml of DAPI at 2 mg/L) and filtered through a black polycarbonate membrane (Nuclepore, 0.22 μm porosity, 25 mm diameter). The membrane was mounted between a slide and a glass cover slip with immersion oil (Olympus-BH2 x1250 enlargement). Pictures from 20 to 25 fields were taken from each filter by a high sensitivity CCD (Kappa DX20). Digitized images were treated using a home made software (Couprie, personal communication) which efficiently isolates the more intense spots relatively to their surrounding, even when the spots are more or less embedded in a fuzzy gel-like matrix. Since no U-shaped vibrio were observed, all bacteria were assumed to be cylindrical rods with hemi-spherical ends, which allows to compute a volume for each bacteria from the 2D-shape observed on images. Biomasses were then computed using the relation between organic carbon content and biovolume established by Simon and Azam (1989) and the conversion factor proposed by von Münch and Pollard (1997) to finally obtain biomass in COD units.

3. Results and discussion

Energy storage in bacteria is important with regards to various treatment processes in WWTP (van Loosdrecht et al., 1997). It was described that polyhydroxyalkanoates (PHA), and other molecules such as glycogen, are synthesized by numerous microorganisms as an energy reserve material, usually when an essential nutrient such as nitrogen or phosphorus is limited in the presence of excess carbon source (Anderson et al., 1990). More recently it was shown that organic carbon feast/famine sequences could also favor PHA accumulation. This phenomenon takes place in different sludge systems like activated sludge and also during experiments in reactor when the biomass grows under unbalanced conditions (pulses of substrate readily degradable leading to feast and famine periods). In these conditions, microorganisms use external substrates for growth and for polymer storage (Van Niel et al., 1995; Majone et al., 1996; Van Aalst-van Leeuwen et al., 1997). Biomass specific rates of PHB production (q_P) as high as 0.6 h^{-1} in COD units have been observed after acetate addition (Van Aalst-Van Leeuwen et al., 1997). Carta et al. (2001) have shown that successions of feast/famine sequences progressively increased the rate of PHB production in bacteria, biomass seeming to adapt to stress conditions while Dircks et al. (2001) found much lower rates ($0.03\text{-}0.04 \text{ h}^{-1}$) with sludge directly collected in a pilot WWTP. According to Dircks et al. (2001), storage and further growth on stored products, induces the so-called shoulder effect in OUR data, where excess oxygen consumption still occurs after exhaustion of acetate and progressively decreases to further reach the base line.

3.1. Model simplification

The IWA Task Group on Mathematical Modeling for Design and Operation of Wastewater Treatment Processes recently introduced a new version of its model called ASM3 (Gujer et al., 1999), which takes into account the storage of polymers by heterotrophic bacteria in activated sludge processes. In ASM3 (Gujer et al., 1999), the readily biodegradable substrate (S) is first converted into intracellular storage products (X_{STO}) and secondly assimilated into biomass. The overall bacterial yield is distributed between a yield coefficient for storage and a yield coefficient for growth. The modeling of decay was simplified in ASM3 compared to ASM1 since direct endogenous respiration is proposed in place of the recycling of decaying bacterial sub-products. Equations describing DOM storage and assimilation in ASM3 are given in Table 1. Optimal parameter values for ASM3 are still poorly defined and more work is needed for their assessment (Henze et al., 2000).

After few tests, which showed that the simulated X_{STO}/X_H was always lower than K_{STO} in our experiments, we decided to simplify the expression proposed in ASM3 by neglecting X_{STO}/X_H

in front of K_{STO} in the expression of growth. The growth process is then expressed as $growth = \mu^* \times X_{STO}$, where μ^* should be identified to μ/K_{STO} in standard ASM3. As suggested by Gujer et al. (1999), this version will be referred to "ASM3z" as the ASM3 dialect in the sequel. For this new model, new asymptotic relations have been computed to define the relation between variables and OUR in the blank (Table 2).

Component i →	1	2	3	4	5	6	7	Process Rate, ρ_j [ML ⁻³ T ⁻¹]
Process j ↓	S _I (COD)	S _S (COD)	X _I (COD)	X _S (COD)	X _H (COD)	X _{STO} (COD)	S _O (O ₂)	
1 hydrolysis	f _{SI}	1 - f _{SI}		-1				$k_H \cdot \frac{X_S / X_H}{K_X + X_S / X_H} \cdot X_H$
2 aerobic storage		-1				Y _{STO}	1 - Y _{STO}	$k_{STO} \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S} \cdot X_H$
3 aerobic growth					1	-1/Y _H	1/Y _H - 1	simplified : $\mu^* \times X_{STO}$
4 aerobic endog. Respiration			f _{XI}		-1		(1 - f _{XI})	$b_H \cdot X_H$
5 aerobic respiration of X _{STO}						-1	1	$b_{STO} \cdot X_{STO}$

Table 1 : Equations for ASM3z.

$$X_{STO} = \frac{b_H}{\mu^*} X_H \quad (a)$$

$$F_{XS} = \frac{b_{STO} + \mu^*/Y_H}{Y_{STO}(1 - f_{SI})} \times \frac{b_H}{\mu^*} \times X_H \quad (b)$$

$$X_S = \frac{R_0}{1 - R_0} K_X X_H \quad \text{with} \quad R_0 = \frac{b_{STO} + \mu^*/Y_H}{k_H Y_{STO}(1 - f_{SI})} \times \frac{b_H}{\mu^*} \quad (c)$$

$$S = \frac{R_1}{1 - R_1} K_S \quad \text{with} \quad R_1 = \frac{b_{STO} + \mu^*/Y_H}{k_{STO} k_H Y_{STO}} \times \frac{b_H}{\mu^*} \quad (d)$$

Table 2 : Asymptotic relations for ASM3z.

3.2. Optimum values for observable parameters

A commonly encountered problem while trying to estimate parameters from experimental data is under-determination. This occurs when the information provided by experiments is not enough to precisely evaluate all the parameters, or cannot resolve some strong correlation between parameters. An under-determined problem also leads to practical problems. Indeed, the cost function (J) is very flat in the directions where the under-determination lays, and the optimizer will spend much time to explore that flat region, where numerical noise can eventually mask the real minimum. Finally the result will be of poor quality because the variance of estimated parameters (inverse of hessian matrix) will be high. In a few words, working on poorly determined problems means wasting time for obtaining poor quality results (Thacker, 1989). When a problem is poorly determined, an interesting strategy is to start with better-determined sub-problems.

Since in ASM3, there is no recycling of decaying biomass into degradable organic matter, the only source of X_S in the system is the flux F_{XS} . F_{XS} is mainly determined by the blank OUR, because the flux of organic matter through the system at steady-state is balanced by oxygen uptake (CO_2 production) and production of non-degradable sub-products. Values of growth rates, decay rates, and yield coefficients determine the ratio between F_{XS} and blank OUR. X_S in the blank is determined by F_{XS} and the parameters related to X_S transformation (f_{SI} , k_H and K_X). Since oxygen consumption starts at the second step of the system (transformation of S into X_S), it is likely that our experiments based on addition of S will not bring much information about these parameters. We decided to first keep them fixed at the values suggested by Henze et al. (2000). For the sort of same reasons, we also decided to freeze f_{XI} since its effect is likely the same as that of b_H on OUR, both parameters should be strongly correlated. However, this did not totally resolve the under-determination problems, as illustrated in the following paragraph which presents a lucky situation with parameter under-determination.

An optimum could be obtained for the parameter values and correlation coefficients given in Table 3. It must be noted that Y_H and b_{STO} are very poorly defined (practically undetermined), which is due to their strong correlation coefficient (almost 1). Indeed, the optimization was slow with lots of iteration. Back to the equations of ASM3z, it can be seen that decay terms for X_{STO} are $\mu^* \times X_{STO}$ which is changed into X_H and $\left(b_{STO} + \frac{1-Y_H}{Y_H} \times \mu^*\right) \times X_{STO}$ which is oxidized into CO_2 . Parameters Y_H and b_{STO} only appear in this process. Then it is clear that

they cannot be both determined, the only determinable quantity is $b_{STO} + \frac{1 - Y_H}{Y_H} \times \mu^*$ whatever the experimental data. Note that the results presented here (Table 3) are “lucky” ones. Variances are obtained by inverting the hessian matrix. Whenever variances are large their inverse will be near to zero. Inverting a small but positive number gives a large and positive number, inverting a slightly different small but negative number gives a very different large and negative number; the same is true when inverting matrix. The reader will understand that in a less lucky and unfortunately common situation, the optimization algorithm would have stopped at a numerical stage where estimated parameter variances would be large and negative and correlation coefficients would become impossible to compute. Very small and unavoidable computing errors may lead to very large errors on the final results, and such undetermined situations should clearly be avoided.

	Y_H	μ^* (h ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	Y_{STO}	k_{STO} (h ⁻¹)	b_{STO} (h ⁻¹)	X_{H0} (mg.L ⁻¹)
Optimum value	0.678**	2.181	0.038	0.928	0.271	0.080**	90.3
“90% confidence interval”	∞^*	± 0.190	± 0.001	± 0.020	± 0.006	∞^*	± 2.5
Correlation coefficients							
	Y_H	μ^*	b_H	Y_{STO}	k_{STO}	b_{STO}	X_H
Y_H	1.0000	0.0012	0.0010	0.0010	0.0008	1.0000	-0.0009
μ		1.0000	0.8380	0.7681	0.6381	0.0016	-0.7318
b_H			1.0000	0.6556	0.9383	0.0013	-0.9651
Y_{STO}				1.0000	0.5540	0.0014	-0.5667
k_{STO}					1.0000	0.0010	-0.9782
b_{STO}						1.0000	-0.0011
X_H							1.0000

*Numerically found, but meaningless (see text) confidence intervals for Y_H and b_{STO} were ± 24 and ± 113 .

**Numerically determined estimates for Y_H and b_{STO} , but meaningless, Y_H and b_{STO} are indeed undetermined.

Table 3 : Optimum parameter values and correlation coefficients for ASM3z, with fixed f_{SI} (=0), f_{XI} (=0.2), k_H (=0.125 h⁻¹), K_X (=1). (J=0.180)

With the standard version of ASM3, respiration on X_{STO} and respiration during growth would be slightly decoupled through the Michaelis term (parameter K_{STO}) which drives the growth of biomass but not the endogenous respiration on X_{STO} . However, since X_{STO}/X_H always appears

much lower than the suggested value for K_{STO} , we believe that b_{STO} and μ would remain highly correlated and difficult to estimate.

Consequently we decided to fix b_{STO} at the value suggested by Henze et al. (2000) for ASM3, i.e. 0.0083 h^{-1} , since μ^* is likely much higher than this value for b_{STO} , it will not be an active

constraint (lower limit) to the quantity $b_{STO} + \frac{1 - Y_H}{Y_H} \times \mu^*$. As might have been expected, Y_H

and Y_{STO} are negatively correlated, with reference to OUR: increasing Y_H decreases the global oxygen consumption and can be compensated by a decrease of Y_{STO} . Parameters μ^* and b_H are positively correlated (growth may partly compensate decay), and the biomass is negatively correlated to k_{STO} and b_H which act as multipliers to biomass in the ASM3z equations. An improved optimization was done by removing the constraint on k_H : it slightly improved the fit ($J=0.171$ instead of 0.180 with k_H set to 0.125 h^{-1}), but did not modified significantly any of the parameter values, only decreased X_{H0} . Results are presented in Table 4 and Figure 1. Using the obtained parameter values, the maximum rate of production of storage products (q_P) would be 0.26 h^{-1} , which seems too high compared to values obtained with standard pilot-WWTP sludge (Dircks et al., 2001).

All these parameter values are not unrealistic except for μ^* which is more than 20 times higher than the expected values proposed in ASM3. However, the value of μ^* should not be compared with a standard growth rate, since it is a growth rate on storage products. To get something equivalent to the saturating growth rate usually given in text books, μ^* should be multiplied by a typical value of X_{STO}/X_H obtained under a substrate saturating situation. The

substrate saturating X_{STO}/X_H is given by $\frac{k_{STO}}{b_{STO} + \mu^* / Y_H}$, that is 0.095 with the optimum

numerical values (Table 4). The real μ_{max} is then reduced to 0.207 h^{-1} or 4.97 d^{-1} , which is a reasonable value compared to the true maximum growth rate μ suggested in ASM1 (Henze et al., 2000) for example. b_H seems too high also but not critically. The estimate of biomass in the batch is not incoherent with the evaluation by epifluorescence ($120 \pm 30 \text{ mg.L}^{-1}$).

	Y_H	μ^* (h ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	k_H (h ⁻¹)	Y_{STO}	k_{STO} (h ⁻¹)	X_{H0} (mg.L ⁻¹)
Optimum value	0.695	2.175	0.044	0.255	0.881	0.299	79.3
« 90% confidence interval »	±0.014	±0.219	±0.002	±0.061	±0.022	±0.009	±3.0
Correlation coefficients							
Y_H	1.000	-0.468	0.168	0.648	-0.948	0.288	-0.307
μ^*		1.000	0.595	-0.314	0.690	0.341	-0.398
B_H			1.000	0.407	0.079	0.946	-0.963
K_H				1.000	-0.648	0.540	-0.565
Y_{STO}					1.000	-0.099	0.111
k_{STO}						1.000	-0.987
X_{H0}							1.000

Table 4 : Parameter estimates and correlation coefficients for ASM3z (J=0.171)

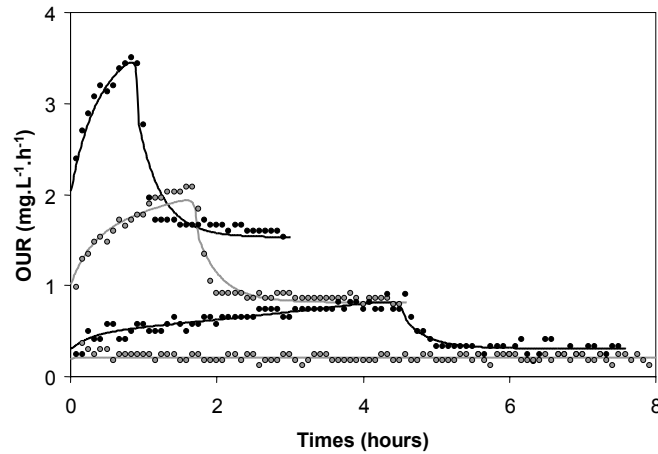


Figure 1 : Best fit obtained for AM3z. b_{sto} , f_{SI} , f_{XI} and K_X have been fixed.

We attempted to force a range for μ^* lower than 0.4 h⁻¹, still more than 4 times higher than the value suggested for ASM3. The optimization led to a very high value of k_H (more than 5 h⁻¹, the arbitrary upper limit we fixed to it) for J=0.804, and we reduced the upper limit for k_H to 0.5 h⁻¹, which is 4 times the suggested value (Henze et al., 2000). The optimum value for J was only slightly increased to 0.806, while μ^* and k_H as expected reached their maximum

admissible values. The overall quality of the fit is clearly worse than the previous one with much higher value for μ^* (Figure 2).

	Y_H	b_H (h^{-1})	Y_{STO}	k_{STO} (h^{-1})	X_H ($mg.L^{-1}$)	J
Optimum value	0.640	0.010	0.764	0.103	267	0.806
« 90% confidence interval »	± 0.022	± 0.004	± 0.018	± 0.039	± 106	-

Table 5 : Optimised parameter values with bounds at 0.4 and 0.5 h^{-1} for μ^* and k_H .

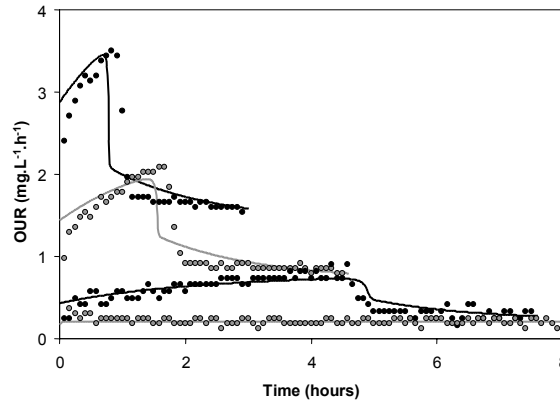


Figure 2 : OUR results for μ^* and k_H bounded at 0.4 and 0.5 h^{-1}

Comparing Figure 1 and Figure 2 demonstrates two types of model behaviour with reference to μ^* . During phase I (increase of OUR) the uptake of substrate simulated by the model is almost constant, since the half-saturation constant for acetate is expected to be low. Then the progressive increase of OUR in phase I must be due to the other process consuming excess oxygen, that is growth on X_{STO} and decay of X_{STO} , both first order in X_{STO} , leading to an exponential curve. An exponential also occurs and during phase II: X_{STO} decreasing at a first order rate, but not renewed from S as in phase I. The time constant of both exponentials is the

same (i.e. $\left[\frac{1-Y_H}{Y_H} \mu^* + b_{STO} \right]^{-1}$), which means a mirror effect between the shapes of

exponentials in phase I and phase II, which is indeed observed in the simulations whatever the value of μ^* for low S/X (i.e. reduced growth effect), but not observed in the experiments.

3.3. Sensitivity of non-optimized parameters

To completely explore model and data, we now come back to the parameters we formerly decided to freeze (f_{SI} , f_{XI} and K_X).

Figure 3 shows how the optimum J value and parameters are modified depending on the value set to K_X . The main effect is on k_H and μ^* , with some less pronounced effect on other parameters and almost no effect on b_H or k_{STO} (Table 6). Changes in K_X are compensated by changes on k_H and changes on X_{S0} (initial value of X_S in the sludge) to keep the rate of hydrolysis constant. The graph in Figure 3 can be separated in two regions separated by a transition. In the low K_X region, X_S/X_H becomes much higher than K_X , and K_X is ineffective. In the high K_X region, k_H becomes stable but poorly determined, and changes in K_X are mostly compensated by changes in X_{S0} , to keep the initial X_{S0}/X_{H0} at about 30% of K_X . Values of μ^* and k_H are well defined in each of the border regions, and change in the transition zone. The increased value of μ^* in the low K_X region allows a better fit to the quick increase and decrease of OUR in phases I and II, however, the reasons why a higher value of μ^* is not optimal in the high K_X region are not clear. These results show that K_X can be an important parameter, although strong variations (factors of 10) have to be imposed on K_X to observe large changes in other parameters values. However, the value suggested for ASM3 (Henze et al., 2000) is unfortunately in the middle of the transition region, where the sensitivity of k_H is the largest. Information from experiments where X_S is changed should also be used to assess this parameter. The optimum value found at $K_X=0$ with this set of data is not acceptable.

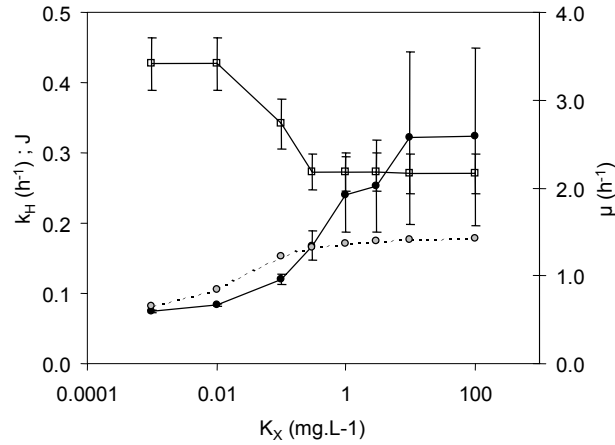


Figure 3 : Influence of K_X on optimal parameters for ASM3z. μ^* is open squares, k_H is close black circles, J is close gray circles. Errors bars are 95% confidence interval.

K_X	J	Y_H	μ^*	b_H (h ⁻¹)	k_H (h ⁻¹)	Y_{STO}	k_{STO} (h ⁻¹)	X_H (mg.L ⁻¹)
100	0.178	0.690	2.16	0.043	0.323	0.888	0.295	80.7
0.001	0.082	0.680	3.41	0.045	0.074	0.920	0.303	76.8

Table 6 : Optimal parameter values for extreme values of K_X .

Less OUR is carried by the bacterial decay process when f_{XI} is increased, and accordingly, more OUR must be carried by respiration on storage or growth. Mortality is higher, as well as storage (b_H , and k_{STO}): all processes reacting to addition of substrate S become more intense to compensate for the lack of oxygen consumption during bacterial decay. Part of the OUR occurring because of growth is transferred to storage, but the product $Y_{STO} \times Y_H$ remains almost constant. Unfixing f_{XI} leads to an optimum solution with f_{XI} reaching its maximum physically meaningful boundary (i.e. $f_{XI}=1$), meaning no endogenous respiration (all dead bacteria transformed into inert products). As for K_X , additional data, with measurement of biomass are needed to assess the value of this parameter, which moves to an certainly excessive value ($f_{XI}=1$) if the optimizer is left free. However, its influence on other parameters remains limited.

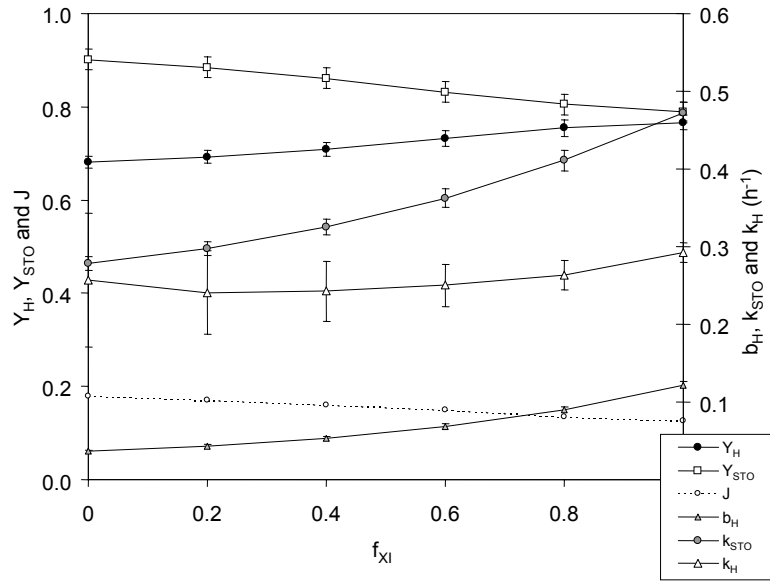


Figure 4 : Influence of f_{XI} on parameter estimates.

It is not clear whether f_{SI} can be observed independently of k_H and F_{XS} (or X_{H0}). The question to answer to is: considering a given set of parameter values, is it possible to find another set of values which will give the same set of simulated oxygen data. Because of non-linearity of the model, answering directly to this question is not easy. $1 - f_{SI}$ appears as a multiplier of k_H in the dynamic equation of S and of F_{XS} in the equation giving F_{XS} as a function of the blank OUR. Then co-variations of k_H and F_{XS} would compensate any change in f_{SI} . k_H and F_{XS} are also part of the dynamic equation for X_S . At $t=0$, X_S is equilibrated in all dilutions, and the co-variation of k_H and F_{XS} respects the equilibrium condition. Then the only change simulated oxygen data would be due to changes in X_H during the simulations which would modify the denominator $\left(K_X + X_S/X_H\right)$ of the rate of hydrolysis which theoretically should modify S and consequently oxygen dynamics. However, since X_S/X_H is small in front of K_X and changes of X_H are not very large, this will hardly be observable on oxygen data. Unsatisfactory attempts to optimize this parameter confirmed it.

3.4. Possible improvements

ASM3, compared to ASM1, de-couples substrate consumption from growth by introducing storage products in between. The results presented above show that the dynamics of storage decay should reflect in quasi-mirror exponential shapes in OUR evolution in both phase I (OUR increase) and phase II (OUR decrease). Some coupling still exists in ASM3 since the

processes by which storage products are stored and used are exactly the same during phase I and phase II. Krishna and Van Loosdrecht (1999) proposed a model (model-A) where such coupling was almost eliminated. They considered that growth may occur directly on S until S becomes limiting, then the storage product can be used. We modified the ASM3z model by adding a direct growth process on S (identical to the process modeled in ASM1), and adding a control term ($\frac{K_S}{K_S + S}$) before the equation describing growth on storage. Accordingly growth on S will occur as long as S is available, and growth on X_{STO} will start once S is exhausted. For sake of simplification (unlike Krishna and Van Loosdrecht), we propose to use the same maximum growth rate for both growth processes, and the same growth yields. This does not introduce any additional parameter, compared to ASM3z. Asymptotic relations linking X_H in blank and F_{XS} and other variables for the modified model (ASM3kr) where computed as for ASM1 and ASM3z. The conclusion from the optimization we conducted was that the best results were obtained with zero storage ($k_{STO}=0$). Results are given in

Table 7(a). Finally, the optimized ASM3kr behaved similarly to ASM1, but with endogenous respiration on biomass decay instead of recycling of dead biomass into X_S . Optimum values obtained for growth rate and mortality are much lower than with ASM1 but the fit was much less good. To better compare endogenous respiration (ASM3kr with $k_{STO}=0$) with recycling of biomass (ASM1), we left f_{XI} and K_X free to reach an optimum values. As in ASM3z, the optimum of f_{XI} was an unrealistic value of 1. The obtained value of J (

Table 7(b)) was similar to what was obtained with ASM1, but as for ASM1 the decay rate (and correlatively the growth rate) reached a too high value. With $k_{STO}=0$, q_p is of course also zero, no storage.

	Y_H	μ (h ⁻¹)	K_S (mg.l ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	K_X (mg.l ⁻¹)	k_H (h ⁻¹)	X_H (mg.l ⁻¹)	J
Optimum value (a)	0.637	0.218	0.027	0.061	-	0.67	60.8	0.372
"90% confidence interval"	±0.004	±0.006	±0.026	±0.002	-	±0.22	±1.7	-
Optimum value (with $f_{XI}=1$) (b)	0.633	0.324	0.033	0.155	0.23	0.295	55.5	0.160
"90% confidence interval"	±0.003	±0.007	±0.013	±0.004	±0.05	±0.011	±1.3	-

Table 7 : Optimized parameters for ASM3kr.(a) The optimum k_{STO} is 0, and b_{STO} and Y_{STO} are undefined, K_X and f_{XI} keep the values fixed for ASM3z. (b) for comparison with ASM1 K_X and f_{XI} were left free, f_{XI} reaches the maximum possible value of 1, still with $k_{STO}=0$.

Finally another mean of de-coupling phase I and phase II was tried. The idea is that the increase in OUR during phase I may be partly due to an adaptation of biomass. Although not known for acetate which can normally be very quickly assimilated by bacteria the occurrence of an adaptation period is well known when a mixed culture is injected in a single substrate (Pitter and Chuboda, 1990). We used X_{STO} as an index for adaptation not to introduce any new variable in the model. Starting from ASM3z, the equation for storage was simply multiplied by a corrective term $\frac{X_{STO}/X_H}{K_{STO} + X_{STO}/X_H}$, introducing a new parameter K_{STO} . The quality of the fit was significantly improved compared to ASM3z, while keeping acceptable values for f_{XL} , f_{SI} and K_X and obtaining a lower optimum value for b_H . The improvement of adaptation, as measured by the value of the corrective term was 50%, 57% and 67% for dilutions 100:350, 50:350 and 15:350 respectively, in good agreement with the values derived from in Table 1 of Dispan et al. (2002): 35%, 47% and 58%. The parameters were generally less precisely defined than previously with 95% confidence interval often larger than $\pm 10\%$. This is not due to a higher variance of measurements as estimated from J (which is lower) but from a higher correlation between parameters. It should be noted that there are clearly other means to introduce some de-coupling between phase I and phase II, this is only an example of what could be proposed, more data are necessary to be able to chose the best way to account for adaptation. In particular the choice of X_{STO} to drive adaptation has no physiological basis.

	Y_H	μ^* (h ⁻¹)	b_H (h ⁻¹)	k_H (h ⁻¹)	Y_{STO}	k_{STO} (h ⁻¹)	K_{STO}	X_{H0} (mg.l ⁻¹)
Optimum value	0.798	0.774	0.023	0.246	0.700	0.261	0.032	133
"90% confidence interval"	0.012	0.108	0.003	0.177	0.007	0.026	0.003	17
Correlation coefficients								
Y_H	1.000	0.665	0.727	-0.480	-0.073	0.740	-0.014	-0.690
μ^*		1.000	0.852	-0.493	0.664	0.771	-0.647	-0.816
b_H			1.000	-0.140	0.445	0.984	-0.284	-0.996
k_H				1.000	-0.222	-0.084	0.371	0.072
Y_{STO}					1.000	0.333	-0.772	-0.428
k_{STO}						1.000	-0.114	-0.987
K_{STO}							1.000	0.251
X_{H0}								1.000

Table8 : Optimum parameter values for model ASM3z with adaptation. Value of cost function J was 0.118

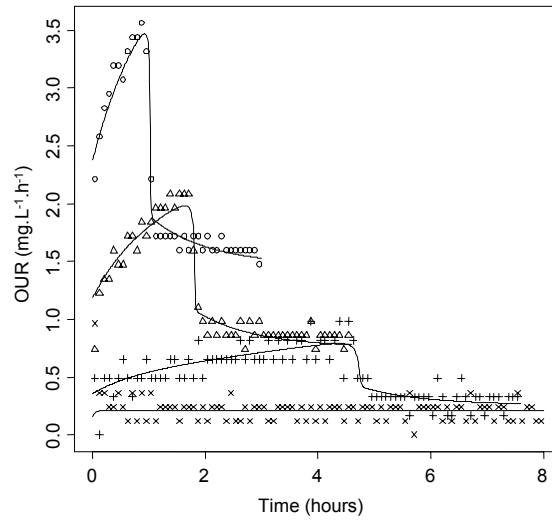


Figure 5 : Simulated OUR with the adapted ASM3z version.

Back to the S/X question, we attempted to determine whether this well behaving model with constant yield parameters was able to produce results where a relation would apparently be obtained between growth yields and S/X. Single-OUR experiments were simulated with S/X ratios ranging from 0.3 to 3. Apparent growth yields were computed following the method M1 described in the companion paper (Dispan et al., submitted). The apparent growth yields ranged from 0.66 to 0.7, but increased with increasing S/X. The variation is limited but contradicts our observations which show an also limited but decreasing variation of the apparent yield with S/X. It also contradicts the observation of Liu (2000) obtained with different experimental conditions. Introducing an energy spilling process, as suggested by Liu (2000) into the model was feasible, for example by decreasing one of the yields (storage yield or growth yield) for well fed biomass (high X_{STO}/X_H). However, we consider that our set of experimental results is too much limited to reasonably test the high number of possible improvements to ASM3. We chose to use the concept of biomass adaptation to a single substrate to try and improve the response of ASM3 for our data, because it has been described in many situations. However the relation between growth yield and S/X remains a fully open question from a modelling point of view.

4. Conclusion

We demonstrated in the companion paper (Dispan et al., submitted) the ASM1 model was only able to reproduce oxygen observations obtained from acetate in single-OUR experiments

by using an unlikely high decay rate for bacteria. A conclusion was that the decoupling of the storage and growth processes would likely improve this since the too high decay rate seemed necessary to compensate a high growth rate needed to simulate a fast substrate assimilation (in ASM1 assimilation and growth are lumped). The hypothesis was validated in this article, although some improvements to ASM3 have finally been, proposed to improve again the quality of the simulations. Indeed, some coupling still exists in ASM3 since the processes by which storage products are stored and used lead to the same quasi-exponential during phase I and phase II. In order to overcome this coupling which cannot not observed in the data, we proposed a modified version of ASM3 which takes into account an adaptation of biomass increasing the OUR during the phase I.

Since only acetate was added, a typical quickly degradable substrate, we did basically not attempt to evaluate parameters related to the degradation of slowly degradable matter (X_S), because of lacking information. Indeed, when trying to find optimal values for these parameters, we generally came poorly defined (high variance) and physically unrealistic values. Consequently we used the values preliminarily proposed by Henze et al. (2000). However, changing their pre-defined value inside an acceptable range did not modify much the optimum values of the well defined parameters. This reinforces their reliability for the system considered here.

The methodology exposed in this article can handle a much larger data set and consider all together results from lots of experiments. This would enlarge the domain of validity of the parameters, and determine their variability issued from different experimental conditions, with a single modelling framework, including the parameter estimation technique.

References

- Anderson, A. J. and Dawes, E. A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic role and industrial uses of bacterial polyhydroxyalkanoates. *Microbial. Rev.* **54**, 450-472.
- Carta, F., Beun, J.J., Van Loosdrecht, M.C. and Heijnen, J.J. (2001). Simultaneous storage and degradation of PHB and glycogen in activated sludge cultures. *Water Research*, **35**(11):2693-2701.
- Dircks K., Henze M., Van Loosdrecht M.C.M., Mosbaek H. and Aspegren H. (2001). Storage and degradation of poly- β -hydroxybutyrate in activated sludge under aerobic conditions. *Water Research*, **35**(9):2277-2285.
- Dispan J., Mouchel J.-M., Charpentier I. and Servais P. (submitted). Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge : I. a methodology to assess model parameters. *Water Research*.
- Garnier J., Billen G. and Servais P. (1992). Physiological characteristics and ecological role of small and large sized bacteria in a polluted river (Seine river, France). *Ach. Hydrobiol. Beih.*, 37:83-94.
- Grady C. P. L. Smets B. F. and Barbeau D. S. (1996). Variability in kinetic parameter estimates : a review of possible causes and a proposed terminology. *Water Research* **30**:742-748.
- Gujer W., Henze M., Mino T. and Van Loosdrecht M.C.M. (1999). Activated sludge model No.3. *Water Science and Technology*, **29**(1):183-193.
- Harremoës, P. (1997). Integrated water and waste management. *Water Science and Technology*, **35**(9):11-20.
- Henze M., Gujer W., Mino T. and Van Loosdrecht M.C.M. (2000). Activated sludge model No.3. in "Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3" edited by the IWA task group on mathematical modeling for the design and operation of biological wastewater treatment. IWA Publishing, pp 121.
- Liu, Y. (2000). The S₀/X₀-dependant dissolved organic carbon distribution in substrate-sufficient batch culture of activated sludge. *Water Research* **34** (5), 1645-1651.
- Liu, Y., Chen G.-H., Paul, E. (1998). Effect of the S₀/X₀ ratio on energy uncoupling in substrate-sufficient batch culture of activated sludge. *Water Research* **32** (10), 2883-2888.
- Majone, M., Massanisso, P., Carucci, A., Lindrea, K. and Tandoi, V. (1996). Influence of storage on kinetic selection to control aerobic filamentous bulking. *Water Science and Technology*, 34(5-6), 223-232.
- Münch V.E. and Pollard P.C. (1997). Measuring bacterial biomass-COD in wastewater containing particulate matter. *Water Research*, 31(10):2550-2556.

Pitter P. and Chudoba J. (1990) Biodegradability of organic substances in the aquatic environment. CRC Press, Boca Raton, USA.

Porter K. G. and Feig Y. S. (1980) The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* **25**, 943-948.

Simon M. and Azam F. (1989) Protein content and protein synthesis rates of planktonic bacteria. *Marine Ecology Progress Series*, **51**:201-213.

Somlyódy L., Henze M., Koncsos L., Rauch W., Reichert P., Shanahan P. and Vanrolleghem P., 2000. River water quality modelling : III. The future of the art. Proceedings of the 1st IWA Conference, held in Paris, May 2000.

Spérandio M. and Paul E. (2000) Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various S0/X0. *Water Research* **34**, 1233-1246.

Thacker W.C. (1989). The role of hessian matrix in fitting models to measurements. *Journal of Geophysical research*, 94-C5:6177-6196.

Van Aalst-van Leeuwen, M. A., Pot, M. A., van Loosdrecht, M. C. M. and Heijnen, J. J. (1997). Kinetic Modeling of term poly- β -hydroxybutyrate. Production and consumption by *Paracoccus pantotrophus* under dynamic substrate supply. *Biotech. Bioeng.*, 55(5), 773-782.

Van Loosdrecht, M. C. M., Pot, M. A. and Heijnen, J. J. (1997). Importance of bacterial storage polymers in bioprocesses. *Water Science and Technology*, **35**(1), 41-47.

Van Niel, E. W. J., Robertson, L. A. and Kuenen, J. G. (1995). Rapid short-term poly- β -hydroxybutyrate production by *Thiosphaera Pantothropa* in the presence of excess acetate. *Enzyme and microbial Technology*, **17**, 977-982.

ARTICLE 3

Characterisation of wastewater biodegradability :
How robust are models to experiments with variable S_0/X_0 ratios

J. Dispan*, J.M. Mouchel*, P. Servais**

* CEREVE-ENPC, 6-8 av. Blaise Pascal, 77455 Marne-La-Vallée Cedex, France

** ESA, Université Libre de Bruxelles, CP221, boulevard du Triomphe, 1050 Bruxelles,
Belgique

Soumis à Urban Water.

NOMENCLATURE

F_{XS} : X_S flux ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1} \text{ h}^{-1}$)

S_I : inert soluble organic material ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)

S_0/X_0 : substrate / biomasse at $t = 0$

S : readily biodegradable organic substrate ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)

X_H : heterotrophic organisms ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)

X_S : slowly biodegradable substrate ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)

X_{STO} : cell internal storage product of heterotrophic organisms ($\text{mgO}_2 \text{ L}^{-1}$)

b_H : aerobic endogenous respiration rate of X_H (h^{-1})

b_{STO} : aerobic endogenous respiration rate for X_{STO} (h^{-1})

f_{SI} : production of S_I in hydrolysis

f_{XI} : production of X_I in endogenous respiration

k_H : hydrolysis rate constant ($\text{g COD}_{XS} (\text{gCOD}_{XH})^{-1} \text{d}^{-1}$)

k_{STO} : storage rate constant for S_S ($\text{g COD}_{SS} (\text{gCOD}_{XH})^{-1} \text{d}^{-1}$)

k_{STO2} : storage rate constant for S_{S2} ($\text{g COD}_{SS2} (\text{gCOD}_{XH})^{-1} \text{d}^{-1}$)

K_S : saturation constant for substrate S_S ($\text{g COD}_{SS} \text{ m}^{-3}$)

K_{S2} : saturation constant for substrate S_{S2} ($\text{g COD}_{SS2} \text{ m}^{-3}$)

K_{STO} : saturation constant for X_{STO} ($\text{g COD}_{XSTO} (\text{gCOD}_{XH})^{-1}$)

K_X : hydrolysis saturation constant ($\text{g COD}_{XS} (\text{gCOD}_{XH})^{-1}$)

Y_{STO} : aerobic yield of stored product per S_S

Y_{STO2} : aerobic yield of stored product per S_{S2}

Y_H : aerobic yield of heterotrophic biomass

μ : heterotrophic max growth rate of X_H (d^{-1})

ABSTRACT

ASM3 model is used to characterize wastewater biodegradability. We tested this model at different initial S_0/X_0 ratios and we showed the importance to work at low S_0/X_0 ratios (< 1.5) in order to overcome a selection among the mixed culture. Indeed, this selection leads to kinetic constants that are not representative of the initial mixed culture.

Acetate (S_s in ASM3), well-known to be the easiest biodegradable molecule, induces an Oxygen Uptake Rate (OUR) lower than the wastewater one. So, we introduced a new dissolved organic matter compartment (S_s type) in ASM3, called S_2 . S_2 degradation induces supplementary oxygen consumption when storing it in cell and consequently permits to simulate the wastewater biodegradability in a best way. Finally, we assess that the inert organic matter represents 12 to 20% of the total dissolved organic matter and the quickest biodegradable organic matter represents 40 to 50%.

Key words : Wastewater characterization, organic matter fractionation, single-OUR method, S_0/X_0 ratio, growth yield, mathematical modelling.

1. INTRODUCTION

The utilisation of models describing the functioning of biological treatment used in WWTPs, developed since about fifteen years by the International Water Association (IWA) (Henze and al., 2000, Gujer and al., 1999), requires a fractionation of organic matter in several classes of biodegradability. The readily biodegradable fraction (S_s , referring to the IWA activated sludge models) is generally determined by means of respirometric test (Sollfrank and Gujer, 1991; Kappeler and Gujer, 1992; Xu and Hasselblad, 1996) and heterotrophic biomass (X_H) by measuring the endogenous respiration. The slowly biodegradable fraction is calculated by difference with the inert fraction which is determined by means of a test under prolonged aeration. Ekama et al. (1986) suggested the use of a laboratory completely mixed reactor system operated at a sludge age between 10 and 20 days and stipulated that the chemical oxygen demand (COD) of the filtered effluent could be used as a measure of the influent soluble inert organic matter (Orhon and Cokgor, 1997). However, this method is time consuming and requires a pilot plant. Another method consists in assimilating the slowly biodegradable fraction to the dissolved organic matter minus the readily biodegradable fraction. This last method is formally incorrect because it ignores the presence of dissolved inert organic matter in wastewater.

Liu et al. (1996, 1998 et 2000) noticed that growth yield (Y) was greater at low S_0/X_0 ratio than at high S_0/X_0 ratio. The yield was calculated as increase in biomass divided by COD removal (peptone in the case of the Liu's experiments). Liu suggested that the S_0/X_0 ratio was a crucial parameter in regulating metabolic pathways of bacteria. Previously, Pitter and Chuboda (1990) and Chudoba et al. (1992) had pointed out the biological meaning of the S_0/X_0 ratio in batch experiments using glucose, acetic acid, glutamic acid and alanin as carbon sources. According to Pitter and Chudoba (1990), microbial growth can proceed either by cell multiplication or by storage (accumulation in cells). There is a major difference between the

two processes from an energetic point of view. Cell multiplication means the transport of extracellular substrate into the cell, oxidation of a portion of it to obtain energy, and use of another portion to synthesise components of new cells (Daigger and Grady, 1982). Whereas storage involves only the transport of substrates, the oxidation of a smaller portion and the synthesis of intracellular compounds. When the ratio is sufficiently low, typically below 2 (COD/MLSS, Mixed Liquor Suspended Solids) (Chudoba et al., 1992) no cell multiplication takes place during the exogenous substrate removal. Under these conditions, the biomass increase and use of substrate is mostly due to the synthesis of intracellular compounds. Under the high S_0/X_0 conditions, for a given amount of utilised substrate, more energy is spent for cell multiplication than would be for simple storage, which results in greater part of substrate being oxidized, and a lower growth yield (Y) as experienced by Liu. Conducting experiments with a large range of S_0/X_0 initial conditions should allow to evaluate both storage and growth processes, whenever one uses a model explicitly taking into account the intracellular storage process, such as the Activated Sludge Model n°3 (Gujer et al., 1999).

In order to globally optimise the management of sewer networks, WWTP and receiving ecosystems (Harremoës, 1997, Somlyódy et al., 2000), it is important to derive a model able to work inside a large range of S_0/X_0 ratio: lower for WWTP and higher for rivers.

In this paper, the methodology developed by Dispan et al. (submitted) will be used on filtered wastewater. The purpose of this paper is so to validate the behaviour of ASM3-like models for varying S_0/X_0 ratio. Furthermore, the IWA methods for determining the inert fraction is substituted by an another method initially developed by Servais et al. (1995) and further simplified by Tusseau et al. (submitted). This last method is preferred because of it can be used with both wastewater and river water. It was successfully applied to study the biodegradation fraction of organic matter in samples collected in sewers (Seidl et al., 1998; Servais et al., 1999a) and in raw and treated wastewaters (Servais et al., 1999b).

2. MATERIAL ET METHODS

Material and methods have been described in details in a previous paper (Dispan et al., submitted). We only briefly summarise the major features of the methodology and mainly describe specific details.

2.1. Instrumentation

Oxygen concentrations were measured in 300 mL at 20°C. Oxygen meters (YSI model 58 or model 52) were carefully calibrated in water saturated air and minor corrections were made for the slightly insufficient, but controlled, agitation in reactors, which slightly damped the signal from the sensors.

2.2. Sludge preparation

Sludge samples from the same primary sludge batch were used for all experiment. Primary sludge was stored under constant stirring and air bubbling during 2 to 5 days in order to reach an approximate plateau of oxygen consumption and a highly homogeneous liquor. The sludge was collected from the Noisy-le-Grand WWTP primary settler (≈ 100000 population equivalent, combined sewers). A plateau OUR was observed after one day. We assume that it occurs after the degradation of quickly degradable dissolved and particulate organic matter initially contained in the primary sludge. During the plateau, OUR is assumed to be mainly maintained by the slow hydrolysis of the large stock of particulate slowly degradable organic matter. In order to inhibit the nitrification, about 10 mg.L^{-1} of TCMP (2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine Hach-formula 2533[®]) was added to the primary sludge during ageing.

2.3. Preparation of dilutions

The method, denoted as the single-OUR method (Xu et al., 1996), is based upon the monitoring of oxygen uptake rate (OUR) response in a reactor mixed biomass with the water to test. All dilutions were made with commercially available spring water with a low

dissolved organic carbon content (measured at about 0.4 mg.L^{-1}) and zero Readily Degradable Organic Matter (RDOM). The supernatant in aged primary sludge is made of wastewater (including ammonium, urea and dissolved phosphate from washing powders) and also includes nutrients released by the degradation of particulate organic matter during the first days. Simple balance computation shows that these nutrients are in large excess compared to the needs of the added wastewater for degradation.

2.4. Optimisation

The technique used for optimisation is described in Dispan et al. (submitted). Model parameters, when required, as well as initial concentrations of degradable organic matter and biomass, are evaluated by minimising the sum of square of differences between simulated and measured data. The procedure considers all experimental data at once. We use a quasi-Newton gradient descent technique (L-BFGS-B, Zhu et al. 1994), which requires a new estimate of the gradient at each step of the descent. Gradients were quickly and precisely computed using the adjoint-model technique. Adjoint code was automatically generated with the automatic differentiator Odyssee (Faurre et Papeguay, 1998). Automatic differentiation of the code was also used to compute the matrix of the second derivatives (the hessian).

When the number of parameters to fit is quite large compared to the information available in the data, it may not be practically possible to find the set of parameters which minimises the cost function, even if their identification is theoretically possible. The hessian of the cost function provides relevant information regarding the quality of the optimisation which may be reached (Thacker, 1989, Wang et al., 1992). In particular, (i) when the hessian is ill-conditioned (i.e. a high ratio between the higher and lower eigen values), the optimisation process may become exceedingly slow, (ii) in regions where the hessian is positive (all eigen values positives) the cost function is convex and whenever converging, the process will converge towards the unique local minimum inside the region and (iii) inverting the hessian

gives information on the variance of correlation of estimated parameters. Hessian and their eigen values and eigen vectors were periodically computed during the optimisation process to validate its quality. Those variable strongly carrying very large (or very small) eigen values were normalized by a higher (or lower) than 1 factor in order to improve the conditionning of the hessian. In general, a factor 5 was used every 50 iterations to normalise the variables strongly related to eigenvalues higher than 200 or lower than 0.005, with a targetted conditionning number of 40000. Although empirical, this procedure proved efficient compared to non-normalized optimisations. However, with a large number of variables to fit (up to 20), the convergence remained slow once in the vicinity of the minimum, and it was not possible to get gradients as low as 10^{-5} , always obtained with few variables to compute (10 or less), and we had to stop the optimisation process with gradients approximating 10^{-2} , after typically 1000 iterations. The reasons for such a behaviour are not understood yet. Although the derivatives are exacts in the sense that there is no error due to the use of discrete time steps for their computation, computer rounding errors remain effective and also fast change of the hessian conditionning might cause such an uncontrolled behaviour.

Since the cost function is not convex, as we could check by computing the hessian matrix in many situations, it is not possible to prove that the optimisation algorithm did not converge into a local minimum. For that reason we always took much care to restart optimisations from other initial conditions, preferably from previous optima obtained with slightly different constraints, in order to check the atractivity of the minimum and its coherence with previously obtained minima.

One oxygen value every five minutes was used to compute the cost function and as well as filtered COD data for experiments with the lower sludge dilution. The cost function (J) was built as a sum of weighted mean squares of differences between observations and model results. It is rational set the weights as the inverse of the expected variance of observations

(assumed four times higher for COD than for oxygen). 28 COD values (2 experiments) and 739 oxygen values (8 experiments) were used for the computations. After optimisation, the variances on errors were corrected to take into account the obtained value of the cost function, which is a good approximation of the total variance of errors.

2.5. Site presentation and sampling

Wastewater samples were collected in the Corbeil sewers system, a non-combined network, in its upper part which is 17 km long along a river with little lateral inputs. It is expected that differing samples can be collected along the system. Sampling was achieved manually at two different stations. The samples were collected during two following days in the middle of the week. Samples are preserved in glass bottles on ice during less than one hour before the beginning of experiments.

2.6. Experimental

A constant volume (25 ml) of 45 μm filtrated wastewater was added to different amounts of biomass (diluted with mineral water): dilutions of 15/350 ($V_{\text{sludge}}/V_{\text{total}}$), 50/350 et 100/350. A blank, without filtrated wastewater was realised for the 15/350 dilution. Oxygen was continuously measured during the following 8 hours or until 2 mg.L^{-1} oxygen was reached.. As already observed by Koch et al. (2000), OUR (Oxygen Uptake Rates) decreased very quickly in an initial phase and then stabilises to a rather constant value once quickly degradable matter has been exhausted.

Experiments were also run with a fourth dilution at a much lower S_0/X_0 ratios. 2.1 mL of sludge only were added to 180 mL of filtered wastewater and diluted in 2300 mL of mineral water. In these experiments, oxygen consumption was much too low to be measurable: leaks would have too much perturbed oxygen data over the long time period needed to observe any significant consumption. Accordingly, this experiment was followed by measuring DOC

(Dissolved Organic Carbon), which can be more precisely measured at low concentrations than COD.

For technical reasons, all experiments were conducted on two following days, but the same batch of ageing primary sludge was used. Consequently, we shall assume that the ecophysiological properties of bacteria are the same on both days, although the amount of bacteria in the sludge may not be the same.

In several experiments, the amount of degradable matter was too high compared to the initial amount of oxygen and reaeration was necessary. A parabolic link was made between the before-aeration and the after-aeration series of oxygen data, which is equivalent to a linear junction of OUR data. All oxygen data in the before-aeration data set were increased by the amount of oxygen necessary to make the parabolic junction. The unknown is the amount of oxygen immediately before aeration, the three known variables defining the parabola are the amount of oxygen immediately after aeration, and the slopes (OUR) before and after aeration.

2.7. Determination of the biodegradable fraction of organic carbon

Servais et al. (1995) proposed a simple procedure based on organic carbon measurements to estimate the biodegradable fraction of DOC (dissolved) and POC (particulate) in batch experiments. Briefly, the water sample is incubated in aerobic conditions for 45 days at 20°C in the dark. DOC and POC are measured at the beginning of the incubation (initial concentrations) and at the end of incubation when the biodegradable fractions of DOC and POC have been mineralised by bacteria. The procedure was modified by Tusseau et al. (accepted), who suggested to add nitrate to the sample, in order to maintain oxidising conditions all along the experiment without needing to constantly blow air in the samples.

Some of the final dissolved or particulate products might be non degradable bacterial by-products, and residual DOC and POC (RDOC and RPOC) might overestimate the initial inert dissolved or particulate components to consider for modelling.

2.8. Hypothesis and dynamic characterisation of the system

A hypothesis has to be made regarding initial conditions to take into account the fact the initial composition of the sludge is not random, but results from an ageing process. Our observation is that OUR in sludge during ageing is rather constant during several days. However, the (heterotrophic) processes described in ASM3 continuously consumes DOM (including bacteria), in such a way that long term constant OUR is impossible. Accordingly, we made the hypothesis that the system was continuously fed by the production of slowly biodegradable substrate (X_S) from a pool of hardly degradable OM, issued from the particulate fraction of sewer water concentrated in primary sludge (Dispan et al., submitted). This flux is called FX_S , it allows to reach an asymptotic state of the system with non-zero OUR with the following relations linking variables (Table 1).

Note that we use in this paper the ASM3z dialect described in Dispan et al. (submitted) where the equation for growth was simplified by removing the Michaelis term and parameter K_{STO} . Accordingly, growth is simply proportional the amount of storage products, X_{STO} , and the new parameter μ^* defining the growth rate can be identified with μ/K_{STO} in the standard ASM3, assuming that X_{STO}/X_H is always lower than K_{STO} . Growth is then simply defined by

$$\frac{dX_H}{dt} = \mu^* X_{STO}.$$

$$S_S = K_S \cdot \frac{1}{\frac{Y_{STO} \cdot k_{STO}}{b_H/Y_H + b_{STO} \cdot b_H/\mu^*} - 1} ; X_S = X_H \cdot K_X \cdot \frac{1}{\frac{Y_{STO} \cdot (1-f_{SI}) \cdot k_H}{b_H/Y_H + b_{STO} \cdot b_H/\mu^*} - 1} ;$$

$$FX_S = \frac{b_H/Y_H + b_{STO} \cdot b_H/\mu^*}{(1-f_{SI}) \cdot Y_{STO}} \cdot X_H ; X_{STO} = \frac{b_H}{\mu^*} \cdot X_H ;$$

$$OUR = -(1-Y_{STO}) \cdot k_{STO} \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S} \cdot X_H + (1-Y_H) \cdot b_H \cdot X_H - (1-f_I) \cdot b_H \cdot X_H - \frac{b_{STO} \cdot b_H}{\mu^*} \cdot X_H$$

Table 1 : Asymptotic relations between variables in ASM3z

All terms in Table 1 are proportional to X_H , except S , which only depends on model parameters.

These computations show that the set of parameters characterising the dynamics of the system cannot be randomly chosen. Of course, they all must be positive, but in addition, asymptotic values of S_S , X_S must also be positive which leads to the following constraints:

$$Y_{STO} \cdot k_{STO} - \frac{b_H}{Y_H} - b_{STO} \cdot \frac{b_H}{\mu_H} > 0 \text{ so that } S > 0 \quad (1)$$

$$\text{and } Y_{STO} \cdot (1 - f_{SI}) \cdot k_H - \frac{b_H}{Y_H} - b_{STO} \cdot \frac{b_H}{\mu_H} > 0 \text{ so that } X_S > 0 \quad (2)$$

These relation can also be understood with the following meanings : (i) bacteria must be able to live on S and (ii) bacteria must be able to live on X_S . For example, in equation (1), the first term is the maximum amount of storage (intake) per unit biomass when S is saturating, the second term is the decay per unit biomass of assimilated products (output), and the third term represents losses due to respiration on storage products. (1) false means that even under saturating S , the balance of bacteria is negative, and consequently that bacteria cannot be cultivated on S .

It should be noted that acceptable parameter values should not lead to quasi-zero values in equations (1) and (2) because this would mean very high steady-state values of S and X_S under constant feed, and consequently very slow dynamics to reach again the equilibrium once feeding conditions are changed. We would come to a non-sense if these time scales were higher than the ageing period.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Biomass adaptation

We proceeded with a large number of experiments based on the single OUR method (Xu et al., 1996) with acetate and filtered wastewater addition always starting from aged primary

sludge issued from the same WWTP. Although the amount of biomass per unit volume of sludge is not constant, it is expected that the bacterial population and its representative physiological characteristics will be very similar for all experiments. As shown in Dispan et al. (submitted), and following the concepts of ASM3, OUR in the ageing primary sludge is proportional to the amount of biomass in the sludge. Immediately after any addition of readily degradable matter, before any additional growth, the maximum additional OUR rate is given by

$$\left(\frac{1}{Y_{STO}} - 1 \right) \times \left(Y_{STO} \cdot k_{STO} - \frac{b_H}{Y_H} + b_{STO} \frac{b_H}{\mu_H} \right) \times X_H \quad (3)$$

which is also proportional to X_H only and not to the amount of added degradable matter.

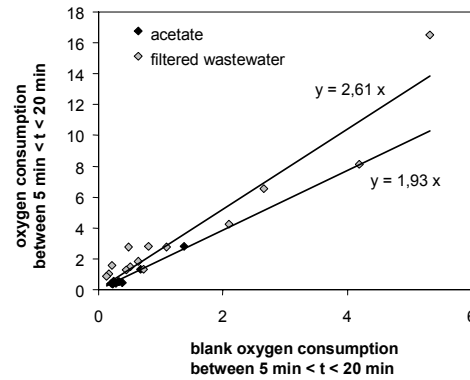


Figure 1 : Initial OUR for acetate and filtered wastewater

Acetate is generally considered as a quickly degradable model substrate. However, Figure 1 shows that the initial OUR is higher in the case of the wastewater than in the case of acetate, using with the same sludge as inoculum. Accordingly wastewater seems to contain substrates which can be significantly more quickly degraded than saturating acetate, which would invalidate the basic idea that acetate can be used to evaluate the maximum assimilation rates

of bacteria. The reason is yet not clear, it may be due to a non-immediate adaptation of WWTP biomass to large amounts of acetate as suggested in Dispan et al. (submitted). Dispan et al. (submitted) showed that the ASM3z dialect was able to simulate satisfyingly acetate degradation after a correction to account for adaptation of bacteria to acetate. In the corrected version, the storage rate is multiplied by a factor linked to X_{STO}/X_H by a Michaelis relationship

($\frac{X_{STO} / X_H}{K_{STO} + X_{STO} / X_H}$). The idea behind this is to simulate some kind of progressive adaptation

of biomass to S assimilation, using energy storage as an index to evaluate bacteria ability to adaptation. Indeed, Pitter and Chudoba (1990) indicate that an adaptation is necessary when bacteria are transferred from a complex medium to a simpler medium that requires the development of a specific pool of enzymes. Although acetate is normally easily degradable and widely distributed in nature, it cannot be excluded that some adaptation is required to optimise the rate of acetate utilisation.

In this paper, the modification regarding biomass adaptation will not be considered anymore because biomass is supposed to be adapted to waste water.

3.2. Using ASM3 for data estimation

Existing parameter sets

We first attempted to utilise the standard parameter set proposed (but not validated yet) in Henze et al (2000) to simulate our observations at four different initial S/X ratio (Table 3).

RDOC data were used to estimate the soluble inert fraction S_I in wastewater samples. A constant factor was used to convert DOC to COD. Our experience is that a ratio of 3 (COD/DOC) is a reasonable guess (Servais et al., 1999a). In accordance with the concepts used in ASM3 ($f_{SI}=0$), we assume that no S_I is produced during the decay of bacteria. Accordingly, after a long enough period in a batch experiment with a biomass inoculum, the remaining dissolved organic carbon will be equal to the initial amount of S_I in the sample. This reduces the dimension of the problem. The only remaining unknowns to evaluate are the

amounts of S (and X_S) in the wastewater samples, and the amount of biomass in the primary sludge.

Following the basic concept in ASM series which states that S is dissolved while X_S is particulate, a first optimisation was run assuming zero X_S is the filtered wastewater used for the experiments. All unknowns were well estimated, with low standard deviations (Table 2). The cost function was 118. As expected, the amount of biomass was slightly lower during the second day (sample #2), indicating a slow decrease of biomass in the quasi steady-state primary sludge batch.

		Sample #1			Sample #2			X_S/X_H in sludge	J
		S	X_S	X_H	S	X_S	X_H		
		(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹)		
Standard	without	148±1	-	1408±6	80±5	-	1241±7	-	118
ASM3	X_S								
-id-	with X_S	88±11	67±11	1425±7	68±14	12±15	1246±8	0.15	106
Koch	with X_S	10±3	121±2	1200±3	39±6	37±5	1073±4	0.06	120
Dispan	with X_S	47±4	106±3	550±1	0	72±3	487±2	0.21	149

Table 2 : Optimum initial values with ASM3z, with or without X_S in waste waters. Subscript 1 refers to the upstream sample, subscript 2 to the downstream sample. The amount of dissolved X_S in sludge mother solution #1 were 216, 67 and 113 mg.L⁻¹ respectively for sets of parameters ASM3, Koch and Dispan.

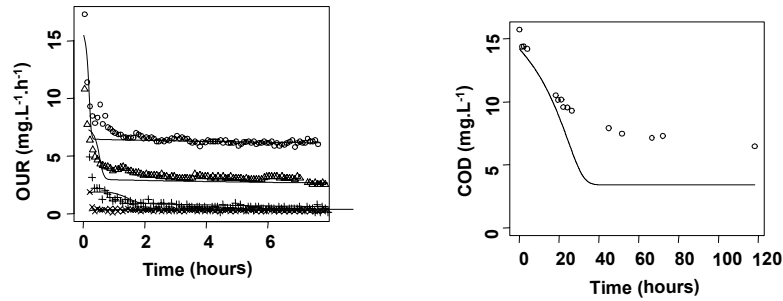


Figure 2 : Best fit obtained by fitting the initial amount of S in wastewater samples as well as the amount of biomass in the primary sludge. See legend in Figure 4.

Graphs (Figure 2) show that the simulated dynamics of oxygen consumption are too fast for experiments with the lower S/X ratio but that a very fast consumption at the very beginning of the experiments seems to be lacking for higher S/X . While the initial dynamics looks reasonable for the very high S/X experiments, the asymptotic value (S_f remaining only) is reached after about one day, which is much too fast compared to experimental data. This suggests that a dissolved slowly degradable component may be needed to obtain a better agreement between observed and simulated data.

Since the difference between dissolved and particulate fractions is physically poorly defined, we considered that a fraction of X_S might be in the filtered fraction of wastewater. Mamais et al. 1993 proposed to flocculate, settle and filtrate municipal wastewater in order to obtain a surrogate of S measured by a biological method. It is likely that filterable colloids in particular were eliminated from the wastewater by flocculation in Mamais experiments, which mean that X_S may reasonably be part of filtered wastewater. Allowing S and X_S in the filtered

wastewater, the value of the cost function J was reduced to 106, which remains very near to the previous estimate (Table 2). X_{H1} and X_{H2} were only very slightly different, which was expected since they mainly depend on the blank OUR. The sums $S_I + X_{S1}$ and $S_2 + X_{S2}$ slightly differed from the single S_I and S_2 values previously estimated. Moreover the errors on these estimates are much higher and seemingly equivalent, which means that the distribution of the degradable COD among two classes was not very well defined. The improvement is weak, the same types of misfits appear in the graphs (Figure 4).

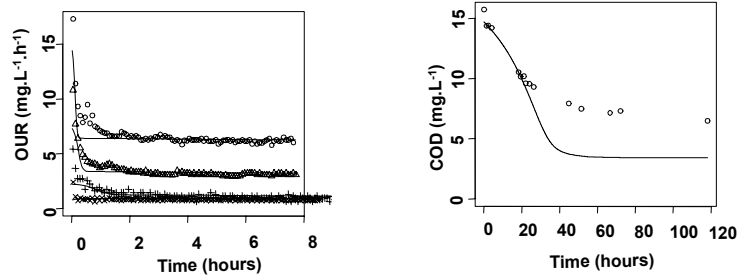


Figure 3 : Example of best fit obtained with existing parameter set. Here the proposed parameter set in Henze et al. (2000) with non zero S and X_S and $t=0$. See the legend of Figure 4.

Another parameter set was proposed by Koch et al. (2000) for Swiss municipal waste water (Table 3). Results gathered in Table 2 show that the absolute value of the cost function is not improved compared to the standard ASM3 values, but this new parameter set allows a better precision in the separation between S and X_S (lower standard deviations), and the balance is more in favour of X_S . Finally, we tested the parameter set proposed by Dispan et al. (submitted), initially designed for acetate, i.e. with no addition of any X_S representative substrate in the experiments. The fit is poorer and the balance is stronger in favour of X_S with

no S at all in sample #2. Table 3 compares the parameter sets, graphs obtained with parameter sets proposed by Koch et al. and Dispan et al. look very much like those obtained with the standard ASM3 parameter set.

	Unit	suggested by Henze et al. (2000)	Proposed by Koch et al. (2000)	proposed by Dispan et al. (submitted)
k_{STO}	h^{-1}	0.208	0.5	0.261
K_S	$g-COD.m^{-3}$	2	10	0.05
k_H	h^{-1}	0.125	0.375	0.246
K_X	-	1	10	1
μ	h^{-1}	0.083	0.125	-
K_{STO}	-	1	0.1	-
$\mu^* = \mu/K_{STO}$	h^{-1}	0.083	1.25	0.774
b_H	h^{-1}	0.0083	0.0125	0.023
b_{STO}	h^{-1}	0.0083	0.0125	0.0083
f_{SI}	-	0	0	0
Y_H	-	0.63	0.8	0.798
Y_{STO}	-	0.85	0.8	0.700
f_{XI}	-	0.2	0.2	0.2
G	h^{-1}	0.07	0.27	0.09
X_{STO}/X_H	-	0.84	0.21	0.08

Table 3 : The three sets of parameter used in comparisons. G and X_{STO}/X_H in the two last lines are given for conditions of steady growth with non-limiting substrate.

It must noted that the three parameter sets led to much different evaluations of the distribution of DOM between S and X_S , while their sum was never much different from was estimated with S only. Moreover, the samples #1 and #2 behave in a radically different manner: the ratio X_S/S decreases from sample #1 to sample #2 with the parameter sets proposed by Henze et al. (2000) and Koch et al. (2000), it increases with the parameter set proposed by Dispan et al. (submitted). Although, none of the fits which was obtained is really satisfying, this very

clearly means that the evaluation of S and X_S is not far from absolute and very strongly depend on the modelling framework which is used.

Improving parameter values

We attempted to modify the proposed parameter set, excepting growth (and storage) yields which can hardly be optimised using OUR data only (Dochain, Vanrolleghem and Van Daele, 1995). Of course, such improvements can be regarded as mis-improvements regarding the data sets which have been used to establish previous parameter sets. It will be necessary in the future to combine a large sets of existing data in order to validate parameter sets or define validity ranges. For now, we are interested in evaluating the ability of ASM3 to conform to experiments with a large range of S/X ratio.

All parameter were adjusted except the fractions f_{XI} and f_{SI} , which are identical in all tested parameter sets, and the rates Y_H and Y_{STO} . Results are given in Table 4. The optimum value of F was 33, while several optimised variables reached the assigned limits, namely K_S , K_X and X_S (sample #2). Both variables characterising the waste water samples are very well defined. The very high value of K_S (100 mg.L^{-1}) means that the saturation effect was not needed to adjust to the data. This is due to the experimental set up we used which varies X and not S . Initial S values remained approximately constants and lower than 10 mg.L^{-1} , which implies that K_S estimates much higher than 10 mg.L^{-1} have no significance; k_{STO}/K_S only is meaningful. Since the estimated K_S was much higher than the maximum concentrations we used, our experiments fail to provide relevant information for saturating conditions. As already obtained with the standard complete ASM3 parameter set, X_S is lower in sample #2 compared to sample #1.

The maximum growth rate is not given by parameter μ^* , nor was it given by μ in standard ASM3. It can be estimated from a situation where bacteria would be exponentially growing at a constant rate, with a constant composition (constant X_{STO}/X_H) with saturating substrate and

assuming zero decay. It can easily be shown from the ASM3z equations that the growth rate (G) is given by

$$\frac{G^2}{\mu^*} + \left(\frac{b_{STO}}{\mu^*} + \frac{1}{Y_H} \right) \times G - k_{STO} \times Y_{STO} = 0$$

which is obtained by writing that the ratios X_{STO} over X_H and dX_{STO}/dt over dX_H/dt must be identical, otherwise the biomass would not maintain a constant composition. With the numerical values proposed in Table 4, we get 1.65 h^{-1} for G and 1.60 for X_{STO}/X_H . However, it must be acknowledged that this value strongly depends on k_{STO} which is only defined through its ratio to K_S .

		Sample #1			Sample #2									
	μ^*	b_H	k_h	k_{STO}	K_S	K_X	S_1	X_{S1}	X_{H1}	S_2	X_{S2}	X_{H2}	J	
ASM3z	1.03	0.033	0.18	6.19	100	10	74.8	56.8	392	51.2	0	340	33.3	
	± 0.08	± 0.003	± 0.08	± 0.37	-	-	± 1.4	± 1.9	± 36	± 1.1	-	± 31		
ASM3z	0.98	0.032	0.170	1.48	20	10	73.2	56.8	398	49.8	0	345	35.0	
	± 0.10	± 0.005	± 0.011	± 0.12	-	-	± 2.0	± 2.1	± 60	± 1.3	-	± 52		
Koch	1.40	0.033	0.176	1.10	20	10	85.3	52.0	473	57.3	0	410	40.8	
	± 0.16	± 0.004	± 0.008	± 0.08	-	-	± 2.4	± 2.4	± 53	± 1.5	-	46		
Dispan	1.40	0.037	0.187	1.34	20	10	78.0	53.1	362	52.2	0	314	39.6	
	± 0.13	± 0.002	± 0.006	± 0.05	-	-	± 1.3	± 2.0	± 15	± 1.2	-	± 13		
ASM3z	8.3	0.0096	10	0.17	20	0.1	108.4	-	1362	59.4	-	1192	53.8	
S only	± 5.8	± 0.0014		± 0.02	-	-	± 1.3	-	± 200	± 1.2	-	± 175		

Table 4 : Optimum parameter values and initial variables after optimisation of all parameters except coefficients for decaying bacteria f_{SI} and f_{XI} and yields (Y_H and Y_{STO}).

Additional optimisations were run by forcing the maximum K_S at a value of 20 mg.L^{-1} , which is a little higher than the maximum COD concentrations we used and therefore a guess of the maximum reasonably measurable K_S in our experiments. Results are given in Table 4. As expected from results of the previous optimisation, K_S reaches the upper bound at 20 mg.L^{-1} ,

k_{STO} is reduced by a factor approximately 5 and G goes down to 0.54 h^{-1} . Other parameters, and the value of the cost function are not much modified. Simulated results are given in Figure 4.

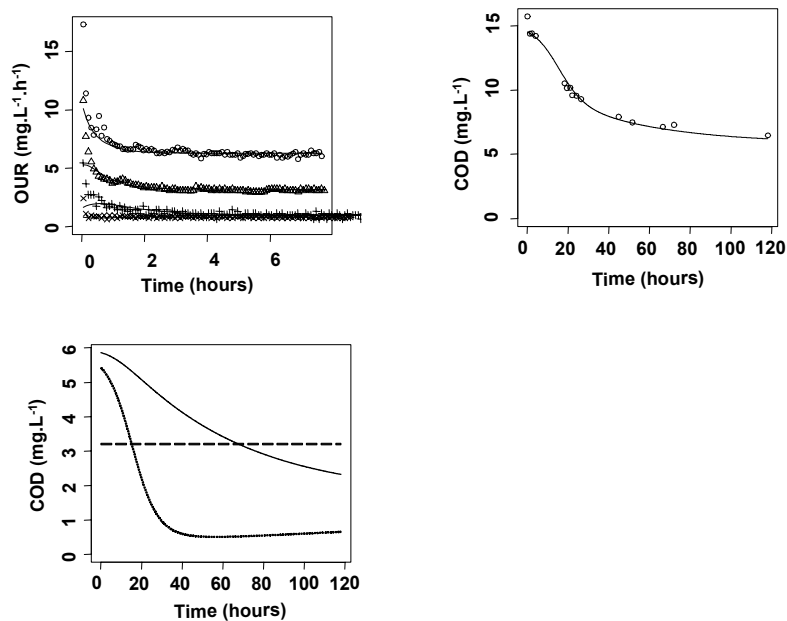


Figure 4 : Oxygen Uptake Rates and COD in experiments at various S/X ratios, after optimisation of all rates and Michaelis constants suggested in the standard version of ASM3z, with S and X_S as dissolved components. The maximum allowed value for K_S was 20 mg.L^{-1} . (a) OUR uptake rates are given for the lower S/X ratio: sample. The dilutions are as follow sludge:total dilutions of 25:100:350 (circles), 25:50:350 (triangles) and 25:15:350 (+) for the samples and 0:15:350 (x) for the blank. (b) COD in the high S/X experiment, dilution 180:2.1:2300. (c) COD fractions in the high S/X experiment : solid line= X_S , points= S , long dashes = S_T . (d) COD fractions in the lower S/X experiment. (test51), note that X_S was divided by 200 to fit on the graph.

The same work was done starting from parameter values proposed by Koch and Dispan. Results are given in Table 4. Values of G were 0.56 h^{-1} and 0.54 h^{-1} with the yields proposed by Dispan et al. and Koch et al. All three solutions are very close from each other.

The three parameter sets suffer from the same drawback. Figure 4 shows that both S and X_S contribute to the observed COD dynamics in the high S/X experiment, while only S is active in the lower S/X test. Despite the pretty good fit to OUR data in low S/X experiments and COD in high S/X experiment, it must be noted that the simulated COD data are very high in low S/X experiments (88 mg.L^{-1} COD in the blank, with the lower dilution of biomass) because of a very high ratio X_S/X_H in the asymptotic biomass. Although COD was not thoroughly measured in low S/X experiments, the few COD data we have for typical experiments with aged primary sludge from Noisy-le-Grand are in around 10 mg.L^{-1} in the blanks after sludge dilution. This strongly suggests that the highly concentrated X_S component which is used by the biomass to survive during aging should probably not be considered as dissolved.

Accordingly, an attempt was made to optimise the parameter set with S only taken as dissolved. This was done with the yields coefficients proposed initially for ASM3 (Henze et al., 2000). Results are presented in Table 4, which shows that the optimum is less good, which was expected, but also that the parameter set is radically different from what was previously obtained. It should be noted that with the optimum value of G becomes 0.09 h^{-1} , and that the system proposes a highly efficient biomass regarding X_S since k_H reaches its upper bound, while K_X reaches its lower bound, resulting in very low X_S concentration in the asymptotic primary sludge ($X_S/X_H \approx 10^{-4}$) and a fast responding sludge. Figure 5 shows the results of the simulation.

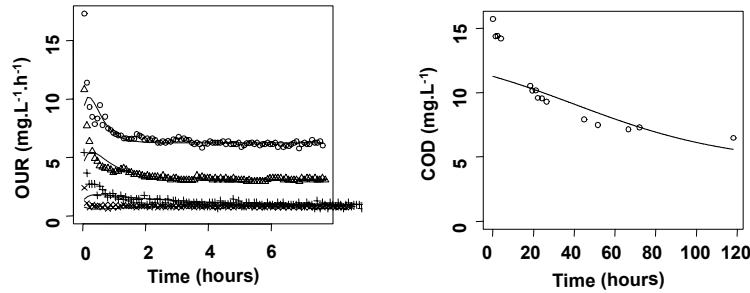


Figure 5 : Oxygen Uptake Rates and COD in experiments at various S/X ratios, after optimisation of all rates and Michaelis constants suggested in the standard version of ASM3z, with S an only dissolved component.

Same symbols as in Figure 4.

Improving the model

A good fit could be obtained by assuming that the X_S was soluble. The quality of the fit was partly obtained because of the contribution of the dissolved X_S from the sludge to the long term behaviour of the system with low sludge dilution, as controlled by dissolved COD measurements. However, to contribute significantly to COD at the lower dilution, the sludge had to be heavily loaded with soluble X_S , which was contradictory with dissolved COD data obtained after sludge dilution in blanks experiments.

The fit obtained with particulate X_S was of lower quality although costly since most parameter have drastically changed, which means that the model will probably not be able to function satisfyingly with the previously studied data sets. Another cheaper strategy in terms of parameter adaptation is to keep all parameters at their fixed value, and to add a component

whose characteristic parameters can be calibrated. Lots of models with an horizontal decomposition of trophic levels have been proposed to take into account the diversity of nature. The multi-G model (Burdige et al., 1991) and HSB (Servais and Billen, 1989) can be given as example regarding the primary heterotrophic level. We propose here to add a second dissolved component called S_2 , which will be stored by bacteria with dynamics similar to those of S . However, it would be unreasonable to let S_2 function purely additionally to S because adding a potential substrate should not increase the maximum storage rate of bacteria. A dampening term ($S_2/(S+S_2)$) was added while the storage of S is now dampened by $S/(S+S_2)$, this is the simplest way to share the bacterial storage activity between S and S_2 . We chose to proceed with the model modification starting from the parameter values proposed by Dispan et al. (submitted) because (i) they were established using then same type of experiments and (ii) the proposed parameters are specific to very quickly degradable substrates such as acetate, which make it reasonable to add a slower component. Parameter sets proposed by Henze et al. (2000) and Koch et al. (2000) already represent a compromise for wastewater, adding a new component would require to revisit the compromise and eventually modify the parameter set. Results are presented in *Table 5* and *Figure 6*. The quality of the fit, measured by J , is lower than what was obtained with ASM3z and dissolved S and X_S which was expected since the number of degrees of freedom is larger with two dissolved components also. However, the fit is better than what was obtained with ASM3z with dissolved S only, although the number of degrees of freedom was higher with ASM3z.

Sample #1					Sample #2			
k_{STO2}	K_{S2}	S	S_2	X_H	S	S_2	X_H	J
0.0056	0.01	80.8±1.2	54.3±1.0	550±1	45.8±1.3	26.1±0.9	486±1	45.4
±0.0002								

Table 5 : Optimised parameters and initial variables with the ASM3z_ S2 model.

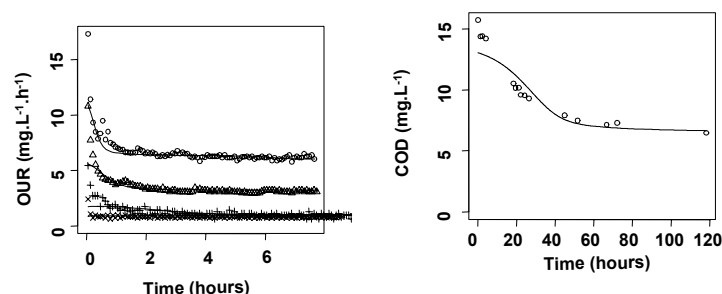


Figure 6 : Oxygen Uptake Rates and COD in experiments at various S/X ratios, after addition of a S_2 compartement to model proposed by Dispan et al. (2000). Same symbols as in Figure 4.

Sensitivity to S/X ratio.

The previous paragraphs show that it is possible to derive parameter sets covering a wide range of S_0/X_0 (Table 6).

Wastewater : Primary sludge	ASM3z, with soluble X_s	ASM3z	ASM3z, with S_2
25:100	0.08	0.02	0.02
25:50	0.17	0.04	0.05
25:15	0.55	0.13	0.16
180:2.1	28.4	6.8	8.1

Table 6 : A posteriori evaluation initial S_0/X_0 ratio in the experiments

We are in general interested in the construction of integrated models for the integrated management of urban sewerage systems and receiving ecosystems. The concentrations of heterotrophs are very much different in these systems, and consequently the dynamics of biodegradation can be much slower in rivers than in WWTP. Designing the simplest experimental procedure which would drive to parameter estimates valid in a wide range of situations is an important issue. In particular it might prove useful to avoid the time consuming higher S/X experiment.

This was studied starting from the ASM3z model with or without dissolved X_S , and from the ASM3z model with S_2 . Fits obtained using information issue from the lower S/X experiments only (OUR data) have been compared with results obtained with the high S/X experiment (COD data). Results are given in *Table 7*, which presents the contribution of each experiment to the total cost, as well as the contribution of low S/X experiments. *Table 7* demonstrates that, while improving the adequacy of the parameters for the low S/X experiments, fitting on the low S/X experiments very significantly decreased the quality of the results for the high S/X experiment for all models in particular for the models with two dissolved COD fractions.

	Experiment	ASM3z, X_S		ASM3z, S		ASM3_ S_2	
		global fit	fit on low	global fit	fit on low	global fit	fit on low
			S/X		S/X		S/X
Sample #1	25:100	6.33	5.04	3.92	3.84	7.43	8.06
	25:50	1.82	2.58	2.35	2.55	2.87	4.47
	25:15	3.69	5.28	8.6	5.09	5.01	4.89
	0:15 (blank)	5.09	1.84	2.25	2.1	4.51	2.99
	Total, low	16.93	14.74	17.12	13.58	19.82	20.41
	S/X						
	180:2.1	0.67	51.16	17.79	28.23	5.48	15.12
Sample #2	Total	17.6	65.9	34.91	41.81	25.3	35.53
	25:100	5.01	4.08	5	3.49	4.31	4.75
	25:50	1.03	0.99	1.34	0.81	2.07	2.16
	25:15	2.25	2.22	1.21	1.89	1.36	1.98
	0:15 (blank)	8.38	2.14	3.62	2.28	11.41	7.17
	Total, low	16.67	9.43	11.17	8.47	19.15	16.06
	S/X						
Sample #2	180:2.1	0.69	5.04	7.7	14.29	0.7	31.29
	Total	17.36	14.47	18.87	22.76	19.85	47.35

Table 7 : Values of the cost function obtained for each of the experiments in optimum situation with ASM3z with and without dissolved X_S and with the ASM3z_ S_2 model.

Conversely, the estimated values of S are similar whatever the model with two components (ASM3z with X_S or ASM3z with S_2) and whatever the data set (with or without the high S/X

experiment) while the discrepancy is on the values of S_2 or X_S . Comparison of the first and the second group of columns in *Table 8* show that when using a fixed set of parameter the estimates of S are become very near, whether the high S/X experiment is used or not, but values of X_S or S_2 remain totally different. We can conclude that S seems a rather well defined quantity provided it is considered in framework where a slower dissolved biodegradable product also exists. The ASM3z model without dissolved X_S lead to much different results.

		Use all experiments		Use parameters from all experiments and fits		Use low S/X experiments	
				concentrations on low S/X			
				experiments only			
		S	X_S or S_2	S	X_S or S_2	S	X_S or S_2
ASM3z, with X_S	Sample #1	73.2±2.0	56.8±2.1	73.2±1.1	0	81.1±1.6	0
	Sample #2	49.8±1.3	0	48.2±1.1	0	56.7±3.1	36.6±3.0
ASM3z, without X_S	Sample #1	108.4±1.3	-	93.0±1.0	-	93.5±3.9	-
	Sample #2	59.4±1.2	-	68.9±1.1	-	71.7±3.5	-
ASM3z_ S_2	Sample #1	80.8±1.2	54.5±1.0	75.2±1.3	50.0±2.0	75.7±1.4	73.0±4.4
	Sample #2	45.8±1.3	26.1±0.9	48.5±1.4	37.6±1.7	48.9±1.5	53.8±3.2

Table 8 : Estimated composition of filtrated wastewater solutions. The first estimate uses all experiments, with a wide range of S/X , parameters are optimised. The second estimate uses only low S/X experiments with optimised parameters. The third estimate uses only low S/X experiments with previously optimised parameters using all experiments.

An important indirect information provided by the high S/X experiment is the total COD, provided that the dissolved COD in the sludge is not exceedingly high. This major difference between ASM3z with dissolved X_S and ASM3z with S_2 is the amount of dissolved COD in the sludge used as inoculum, which certainly explains the much higher S_2 obtained with ASM3z with S_2 compared to ASM3z with X_S . An optimisation was run with ASM3z with S_2 , taking

into account the first COD data ($t=0$) only in high S/X experiments, to consider information on the COD only and not on the dynamics of the slower dissolved component. For S and S_2 , the obtained values were 78.8 ± 1.2 and 80.9 ± 2.7 for sample #1 and 45.5 ± 1.3 and 51.2 ± 2.1 for sample #2, which is very near to the results obtained with the complete data set for high S/X experiments. As expected, a different value was obtained for parameter k_{STO2} , which characterises the degradation dynamics of the slower component (0.0080 h^{-1} vs 0.0056 h^{-1}).

4. Conclusions

Experiments have been conducted to elaborate a methodology to characterise the degradability of dissolved COD in wastewater. With focus on integrated modelling, the degradability must be evaluated by binning into classes of predetermined kinetics. It is not relevant to characterise the degradability by a kinetic parameter since the integrated models will not be able to handle together a large set of variables with specific kinetic parameters issued from all the discharge points to consider.

Respirometric tests are most generally used to estimate the readily degradable fraction of COD in wastewater, however, the procedure to derive such data is generally not precisely defined in the description of respirometric techniques (Spanjers et al., 1998, Ubay Çokgör et al., 1998). As shown in recent studies (Dircks et al. 1999), shoulder effects after the faster OUR period, generally attributed to a slower degradation product could be a delayed OUR, to attribute to the readily degradable COD, but delayed by a storage effect. Accordingly, respirometric data should be examined by taking into account both possible effects : existence of slowly degradable components and storage effects. ASM3 model as well as the dialect we use here (ASM3z) allow doing so, using an accurate optimisation procedure.

It was shown that a model with one component only could not fit to the data set obtained with the filtered fraction of wastewater samples even after adjusting parameters. Problems

occurred in particular with the data coming from the experiment with the higher S/X,. Models with two components to describe the dissolved fraction of COD were thus preferred.

However we demonstrated that different parameter sets lead to a completely different composition of the wastewater samples, which clearly proves that the information contained in OUR data, even using a set of experiments with varying S/X ratio is not enough to evaluate the readily degradable COD, when another lower component exists.

We finally proposed to use a set of parameters adjusted to the degradation of a fast model component (acetate) and to add an unknown model component. It is shown that the degradation kinetic of the second component does not interfere much with the produced estimates of readily degradable COD, thus enabling a methodology for its estimation which remains coherent over a large range of S/X ratios.

Acknowledgements

The SIARCE is gratefully acknowledged for providing access and information on the Corbeil sewer system. The first author was partly funded by a doctoral fellowship provided by the french government.

References

- Daigger G.T. and Grady C.P.L. jr. (1982). The dynamics of microbial growth on soluble substrates. A unifying theory. *Wat. Res.*, **16**, 365-382.
- Dircks K., Pind, P. F., Mosbaek, H. and Henze M. (1999). Yield determination by respirometry – The possible influence of storage under aerobic conditions in activated sludge. *Water SA*, **25** (1), 69-74.
- Dispan J., Mouchel J-M, Charpentier I. and Servais P. (submitted). Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge. I. A methodology to assess model parameters.. *Water Research*.
- Dispan J., Mouchel J-M, Charpentier I. and Servais P. (submitted). Acetate degradation by a non-cultivated primary sludge : II. A modeling study using ASM3.. *Water Research*.
- Dochain D., Vanrolleghem P.A. and Van Daele M. (1995). Structural identifiability of biokinetic models of activated sludge respiration. *Water Research*, 29(11):2571-2578.
- Ekama G. A., Dold P. L. and Marais G.v.R. (1986). Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.* 18, 91-114.
- Faure C. and Papegay Y. (1998). *Odyssee User's guide. Version 1.7. Rapport technique n°0224, INRIA*, pp 81.
- Gujer, W., Henze, M., Mino, T. and Van Loosdrecht, M. C. M. (1999) Activated sludge model No.3. *Wat. Sci. Tech.* **39**, 138-194.
- Harremoës, P. (1997) Integrated water and waste management. *Water Science and Technology*, **35**(9):11-20.
- Henze, M., Gujer, W., Mino, T. and van Loosdrecht, M.C.M. (2000) Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2D and ASM3. IWA Publishing, pp 121.
- Kappeler J. and Gujer W. (1992) Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge modelling. *Wat. Sci. Technol.* **25**, 43-57.
- Koch G., Kühni M., Gujer W. and Siegrist H. (2000). Calibration and validation of activated sludge model no. 3 for Swiss municipal wastewater. *Water Research*, 34(14):3580-3590.
- Liu, Y. (1996) Bioenergetic interpretation on the S₀/X₀ ratio in substrate-sufficient batch culture. *Wat. Res.* **30** (11), 2766-2770.
- Liu, Y., Chen G.-H., Paul, E. (1998) Effect of the S₀/X₀ ratio on energy uncoupling in substrate-sufficient batch culture of activated sludge. *Wat. Res.* **32** (10), 2883-2888.
- Liu, Y. (2000) The S₀/X₀-dependant dissolved organic carbon distribution in substrate-sufficient batch culture of activated sludge. *Wat. Res.* **34** (5), 1645-1651.

Mamais D., Jenkins D. and Pitt P. (1993). A rapid physico-chemical method for the determination of readily biodegradable soluble COD in municipal wastewater. *Water Research*, 27(11):195-197.

Orhon D. and Uday Çokgör E. U. (1997). COD fractionation in Wastewater Characterization – The State of the Art. *J. Chem. Tech. Biotechnol.*, **68**, 283-293.

Pitter P. and Chudoba J. (1990) Biodegradability of organic substances in the aquatic environment. CRC Press, Boca Raton, USA.

Seidl M., Servais P., Martaud A., Gandouin C. and Mouchel J.M. (1998). Organic carbon biodegradability and heterotrophic bacteria along a combined sewer catchment during rain events ; *Water Science and Technology*, 37, 25-33.

Servais P., Barillier A. and Garnier J. (1995). Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon in waters. *Annales Limnologie*, **31** 75-80.

Servais P., Seidl M. and Mouchel J.-M., (1999)a. Comparison of parameters characterizing organic matter in a combined sewer during rain events and dry weather. *Water Environmental Research*. **71**, 408-417.

Servais, P., Garnier, J., Demarteau, N., Brion, N. and Billen, G. (1999)b. Supply of organic matter and bacteria to aquatic ecosystems through waste water effluents. *Water Research*, **33**(16):3521-3531.

Sollfrank U. and Gujer W. (1991). Characterization of domestic wastewater for mathematical modelling of the activated sludge process. *Water Science and Technology* **23**:1057-1066.

Somlyódy L., Henze M., Koncsos L., Rauch W., Reichert P., Shanahan P. and Vanrolleghem P. (2000). River water quality modelling : III. The future of the art. *Proceedings of the 1st IWA Conference*, held in Paris, May 2000.

Spanjers H., Vanrolleghem P.A., Olsson G. and Dold P.L. (1998). *Respirometry in control of the activated sludge process: principles*. IWA Scientific and technical report No 7, pp 48.

Thacker W.C. (1989). The role of the Hessian matrix in fitting models to measurements. *Journal of Geophysical Research*. Vol 94, N° C5, 6177-6196.

Tusseau-Vuillemin M.-H., Dispan J., Mouchel J-M and Servais P. (accepted). Biodegradable fraction of organic carbon estimated under oxic and anoxic conditions. *Water Research*.

Uday Çokgör E. U., Sözen S., Orhon D. and Henze M. (1998). Respirometric analysis of activated sludge behaviour. I. Assessment of the readily biodegradable substrate. *Water research*, 32(2):461-175.

Xu S. and Hasselblad S. (1996) A simple biological method to estimate the readily biodegradable organic matter in wastewater. *Water Science and Technology* **30**, 4, 1023-1025.

Wang Z., Navon I.M., Le Dimet F.X. and Zou X. (1992). The second order order adjoint analysis: theory and applications. *Meteorology and atmospheric physics*, 50:3-20.

Zhu C., Byrd R.H., Lu P., Nocedal J. (1994). L-BFGS-B: a limited memory FORTRAN code for solving bound constrained optimization problems', Tech. Report, NAM-11, EECS Department, Northwestern University.

ARTICLE 4

Evaluation de la dégradabilité des matières organiques dissoutes dans un continuum réseau-station-rivière

Jérôme Dispan¹, Jean-Marie Mouchel¹ et Pierre Servais².

¹. Cereve, ENPC, 6-8 av. Blaise Pascal, 77455 MARNE LA VALLEE, FRANCE

². ESA, ULB, Bd du Triomphe, CP221, boulevard du Triomphe, 1050 BRUXELLES, Belgique

Soumis à la Revue des Sciences de l'Eau.

Introduction

Une vision intégrée est de plus en plus souvent présentée comme une nécessité pour limiter les impacts négatifs des systèmes d'assainissement sur les milieux récepteurs. Elle permet en effet d'optimiser le système dans sa phase de conception ainsi que pour sa gestion. Une telle intégration nécessite une bonne connaissance du comportement de chacun des sous-systèmes qui composent l'ensemble (réseau, station et milieu récepteur) et aussi des interfaces bien maîtrisés entre les représentations des sous-systèmes. En particulier, les variables utilisées pour décrire le système doivent être cohérentes entre ses différentes parties. Parmi ces variables, les matières organiques sont particulièrement importantes puisqu'elles conditionnent en grande partie l'intensité de l'impact sur le milieu récepteur. Cet article concerne l'application d'une méthode d'évaluation de différentes classes de dégradabilité de la matière organique dissoute dans des échantillons de différentes origines collectés le long du continuum réseau/station/milieu.

Une donnée telle qu'une fraction rapidement biodégradable n'est pas une donnée mesurable dans l'absolu, comme l'est la teneur en un élément chimique donné. Le concept est flou, il renvoie en effet à une échelle de temps qu'il faut définir, et suppose que l'échelle de temps de dégradation des matières organiques considérées est une constante indépendante du contexte dans lequel la dégradation a lieu. Or, la dégradabilité elle-même ou la vitesse de dégradabilité sont des concepts qui dépendent étroitement de divers facteurs du milieu et en particulier de la biomasse en charge de la dégradation. Ainsi, la définition du rapidement dégradable est fortement dépendante du contexte expérimental.

La construction d'un modèle, même s'il doit demeurer imparfait étant donnée la grande complexité des systèmes étudiés, permet d'étendre la validité des prédictions qu'on est en

mesure de faire sur le comportement du système. Cette idée est très largement appliquée en hydrologie où les connaissances qu'on peut acquérir d'un bassin versant sont toujours insuffisantes pour le décrire en détail. Il en est de même ici où la complexité de la composition des matières organiques naturelles, ainsi que celle de la biomasse microbienne, sont telles qu'une description complète, basée sur des constantes biologiques ou physiques universelles, est parfaitement illusoire. Le modèle permet de construire une lunette au travers de laquelle les systèmes sont observés. Certes, son champ est forcément limité, mais elle révèle objectivement certaines caractéristiques du système une fois faite l'hypothèse que le modèle permet de le représenter.

Plusieurs méthodes de mesure des matières organiques rapidement dégradables ont été proposées par le passé, notamment dans la communauté de l'épuration des eaux. Ces techniques au démarrage simulaient de près le fonctionnement d'une station d'épuration (Ekama et al., 1986) respectant le principe selon lequel, dans un domaine où les connaissances restent limitées, les mesures doivent être acquises dans des conditions mimant au plus près les conditions dans lesquels elles seront utilisées. Par la suite, d'autres méthodes ont été proposées (méthode respirométrique à faible rapport substrat sur biomasse (Vanrolleghem et al., 1999), méthode du "Single OUR" de Xu et Hasselblad, 1996), parfois très éloignées de la dégradabilité dans leur principe (Mamais et al., 1993). Mais alors que la référence aux modèles est de plus en plus fréquente dans le domaine de l'épuration, l'utilisation des modèles pour décrire le système est généralement limitée au système global (la station d'épuration), où la pertinence de tous les éléments du modèle est difficile à évaluer étant donnée la complexité du système. Au contraire, dans des expérimentations destinées à évaluer les variables du système (i.e. les matières organiques rapidement dégradables notamment), on recourt encore souvent à des méthodes discutables telles qu'enlever une ligne base dans un essai de respirométrie, ou ajuster une exponentielle sur une partie de courbe de respiration fonction du temps pour évaluer le taux de croissance optimal de la biomasse. Quelle ligne de base enlever en effet ? La ligne de base n'est-elle pas modifiée par la mesure (ajout du substrat à dégrader) ainsi que l'on prouvé de récents travaux sur le stockage de réserves cellulaires par les bactéries (Majone et al., 1999, Dircks et al., 2001), représentés dans le récent modèle ASM3 (Henze et al., 2000) ? Comment estimer par ailleurs la partie de courbe qui correspond effectivement à une croissance maximale, le taux de respiration par unité de biomasse peut-il effectivement être considéré comme constant durant cette période pour que la respiration puisse être considérée comme proportionnelle à la biomasse ?

La réponse à ces questions est en réalité très complexe, elle est directement reliée au réalisme des concepts qui sous-tendent le modèle sur lequel elles reposent implicitement. Il est alors plus sage d'utiliser objectivement un modèle pour procéder à de telles évaluations.

Cet article décrit l'utilisation d'un modèle pour évaluer les matières organiques rapidement dégradables dans une série d'échantillons qui représentent les différentes étapes du transit des matières organiques dans un bassin versant urbanisé, des eaux usées aux eaux de rivière en passant par les eaux traitées. Ce type d'évaluation, homogène à l'échelle du système est en effet indispensable à sa gestion intégrée. Par ailleurs, en travaillant avec des eaux de caractéristiques très différentes, on s'attend éventuellement à des comportements différents des dispositifs expérimentaux. L'utilisation du modèle permet alors une utilisation plus rationnelle et plus homogène des données.

Matériels et méthodes

Description du modèle

Nous avons développé dans des travaux précédents (Dispan et al., article 3) une version modifiée du modèle ASM3 qui permet de simuler raisonnablement la dégradation des matières organiques dissoutes telle que vue au travers de la respirométrie à la fois pour des substrats modèles et des eaux usées filtrées (Figure 1). Il a été établi à partir d'acétate comme substance modèle, puis modifié pour tenir compte de la présence de substances dissoutes plus lentement dégradables. En particulier, le modèle supporte des rapports S/X (substrat sur biomasse) variables. Une particularité de ce modèle par rapport au modèle ASM3 standard est la présence de deux formes de matières organiques dissoutes dégradables en plus du compartiment dissous non dégradable. Cette modification au modèle avait été rendue nécessaire pour pouvoir simuler à la fois le comportement de matières très facilement dégradables (acétate utilisé comme modèle) et des matières dissoutes présentes dans des eaux usées réelles, dont la vitesse de dégradation est nettement inférieure à celle de l'acétate. Nous avons ainsi trois compartiments dissous (S , S_2 et S_I) et un jeu de paramètres qui résulte de ces essais tout en reprenant un certain nombre d'hypothèses émises par Henze et al. (2000) et plusieurs valeurs suggérées des paramètres. La question qui reste posée est "est-il possible de mesurer ces trois variables dans un échantillon quelconque au prix d'un effort d'expérimental raisonnable ?".

Composant i →	1 S _I (COD)	2 S _S (COD)	3 X _I (COD)	4 X _S (COD)	5 X _H (COD)	6 X _{STO} (COD)	7 S _O (O ₂)	Cinétique du processus, ρ_j [ML ⁻³ T ⁻¹]
Processus j ↓								
1 hydrolyse	f _{SI}	1 - f _{SI}		-1				$k_H \cdot \frac{X_S / X_H}{K_X + X_S / X_H} \cdot X_H$
2 stockage de S		-1				Y _{STO}	1 - Y _{STO}	$k_{STO} \cdot p_S \frac{S}{K_S + S} \cdot X_H$
3 stockage de S ₂		-1				Y _{STO}	1 - Y _{STO}	$k_{STO2} \cdot p_{S2} \frac{S_2}{K_{S2} + S_2} \cdot X_H$
4 croissance aérobie					1	-1/Y _H	1/Y _H - 1	$\mu^* \times X_{STO}$
5 respiration endogène			f _{XI}		-1		(1 - f _{XI})	$b_H \cdot X_H$
6 respiration des produits de						-1	1	$b_{STO} \cdot X_{STO}$

Figure 1 : Matrice de fonctionnement modèle modifié ASM3_S₂. p_S et p_{S2} pondèrent les consommations des deux substrat. En version initiale, p_S et p_{S2} valent respectivement S/(S+S₂) et S₂/(S+S₂).

Procédure d'optimisation

La procédure a été décrite en détail dans Dispan et al. (article 1), et nous n'en rappelons ici que les traits principaux. On minimise une fonction coût constituée de la somme des carrés des écarts des simulations aux observations. Chaque terme de la somme est pondéré par l'inverse de la variance estimée a priori de l'erreur de mesure. Dans ces conditions, une fois le minimum atteint, l'inverse de la matrice hessienne donne une estimation locale de la variance (et covariance) des paramètres estimés (Thacker, 1989), qui sont des variables aléatoires dépendantes des observations.

Le minimum est recherché par un algorithme de gradient conjugué, nous utilisons le code L-BFGS-B (Zhu et al., 1994). Le gradient est estimé directement à partir du code adjoint du modèle (Faurre et Papegay, 1998). Cette technique de calcul rapide et précise donne également accès au hessien pour un temps de calcul qui reste raisonnable. En plus de la matrice de variance du vecteur des paramètres, l'accès au hessien nous permet d'évaluer le conditionnement du problème d'optimisation (le rapport entre la plus grande et la plus petite des valeurs propres du hessien) et de procéder à des changements de variables dans l'espace des paramètres susceptibles de l'améliorer.

Pour un jeu de paramètres parfait (i.e. tel que le modèle simule parfaitement la réalité), et en supposant que les erreurs de mesure sont indépendantes et de même loi, avec un nombre de mesures très supérieur aux nombre des paramètres à estimer, la valeur observée de la fonction coût (une somme de variables aléatoires de variance unité) devrait être peu éloignée de N, le nombre de mesures. Une valeur plus élevée de la fonction coût traduit probablement l'existence d'autres erreurs, comme soit une certaine inadéquation du modèle. La forme que

devraient prendre les erreurs dues à l'inadéquation du modèle est complètement inconnue. Nous faisons l'hypothèse simple qu'elles sont additives aux sorties du modèle déterministe pour chaque observation, et l'hypothèse beaucoup plus forte qu'elles sont indépendantes et que leur variance est proportionnelle à celle des erreurs de mesure. Cette dernière hypothèse, très forte, n'est justifiée que par la totale incertitude que nous avons de la forme de devraient prendre les erreurs-modèle, et par la simplification qu'elle permet pour l'estimation finale des variances des paramètres. En effet, erreurs d'observations et erreurs-modèles se confondent au rapport de leur variance près sous cette hypothèse. Alors, la valeur obtenue de la fonction coût à l'optimum devient un estimateur du rapport de variance inconnu entre les erreurs-modèles et les erreurs de mesure.

Ces nouvelles variances incluant les erreurs-modèle peuvent alors être réintroduites dans le problème d'optimisation, elles ne font que multiplier la fonction coût par une constante, qui affectera le hessien et donc les variances et covariances des paramètres et variables à estimer.

Description du site et de l'échantillonnage

Des échantillons de différents types ont été collectés, ils sont caractéristiques du continuum réseau-station-milieu auquel les modèles intégrés de gestion de l'assainissement urbain doivent être appliqués. Ils proviennent du bassin versant du Grand Morin, affluent de la Marne, et de la Marne elle-même. Des échantillons ont été collectés en entrée et en sortie de différentes stations d'épuration dans le bassin versant. Les caractéristiques des stations sélectionnées figurent dans le Tableau 1. D'autres échantillons ont été collectés en différents points dans le Grand Morin lui-même. Les échantillons du bassin versant du Grand Morin ont été collectés au cours d'une campagne de mesure organisée en juin 2000. Quelques échantillons ont été collectés dans la Marne en trois périodes au cours de l'année 1999, la Marne dans son secteur aval est une des rivières où les développements phytoplanctoniques sont les plus importants dans le bassin de la Seine (Garnier et al., 1995).

Station	Type de traitement	Type de réseau	Coefficient de charge
Bouleurs	Boues activées, aération prolongée, 1000 EH en mauvais fonctionnement au moment de l'échantillonnage	Réseau séparatif	0.75
Aulnoy	Lagunage naturel, 180 EH	Réseau mixte	0.45
Couilly	Boues activées, aération prolongée, 15000 EH	Réseau mixte	0.53
Guérard	Boues activées, aération prolongée, 1000 EH	Réseau séparatif	0.41

Tableau 1 : Stations d'épurations sélectionnées dans le bassin versant du Grand Morin

Tous les échantillons que nous avons utilisés au cours de ce travail sont des échantillons instantanés, conservés sur de la glace. Les expérimentations ont été lancées le plus rapidement possible après collecte soit après une heure environ. En effet, des essais préliminaires ont

montré, avec des eaux usées notamment, que la DCO dissoute évoluait fortement au cours des premières heures de stockage, même sur de la glace. Qu'il s'agisse d'adsorption ou de dégradation microbienne, cette perte de matériel dissous modifie considérablement la composition de l'échantillon. Dans les stations d'épuration, des échantillons complémentaires ont été collectés dans des échantillonneurs réfrigérés pour produire des échantillons moyennés sur 24 heures à titre de comparaison. Dans la rivière les échantillons étaient collectés en subsurface. De retour au laboratoire, les échantillons étaient filtrés sur des filtres en fibre de verre (Whatman GF/F) préalablement calcinés à 550°C pour éliminer toute trace de matière organique. La fraction dissoute était immédiatement utilisée pour les essais d'évaluation de la M.O. rapidement dégradables.

Protocoles analytiques

Nous nous basons principalement sur les méthodes de type respirométrie conseillées par l'IWA et utilisées couramment dans le domaine de l'épuration pour évaluer les matières organiques rapidement dégradables. La méthode utilisée dans cet article est celle de Xu et al. (1996). Elle est basée sur le suivi de la concentration en oxygène dans un réacteur contenant des bactéries et l'eau à tester ainsi que des sous-produits provenant des boues utilisées pour l'ensemencement. Un des avantages de cette méthode est qu'elle peut être utilisée pour des eaux de faible DCO telle que les eaux de rivière. Toutes les dilutions sont réalisées avec une eau minérale commerciale présentant une faible teneur en carbone organique dissous (environ 0.4 mg.L⁻¹), ne contenant pas de matière organique rapidement biodégradable et fournissant suffisamment de sels minéraux pour limiter le stress osmotique sur les bactéries. Les expériences ont été menées dans des réacteurs étanches de 300 ml maintenus à 20°C. La concentration en oxygène dissous est suivie dans chacun des réacteurs. Avant chaque expérience, la réponse des sondes est validée en les plaçant dans de l'air saturé en eau à 20°C, après séchage des membranes. Deux validations successives, en début et en fin d'essai, donnent une très faible déviation de la concentration mesurée en oxygène (quelques centièmes de mg.L⁻¹).

Des boues primaires, provenant de la station d'épuration de Noisy-Le-Grand (100000 équivalent-habitant, réseau unitaire), sont agitées et aérées durant 2 à 5 jours jusqu'à atteindre un plateau de consommation d'oxygène sensiblement constant. Cette phase de consommation constante (Figure 3) indique que la fraction de matière organique rapidement biodégradable (particulaire et dissoute) initialement présente dans les boues a été consommée. Durant la période de plateau, la consommation en oxygène est probablement entretenue par la lente hydrolyse d'un stock de matière organique particulaire. 10 mg.L⁻¹ de TCMP (2-chloro-6-

(trichlorométhyl) pyridine), inhibiteur de nitrification fournit par HACH (formule 2533TM), sont ajoutés dans les boues primaires durant la phase de vieillissement afin d'éviter le développement de bactéries nitrifiantes.

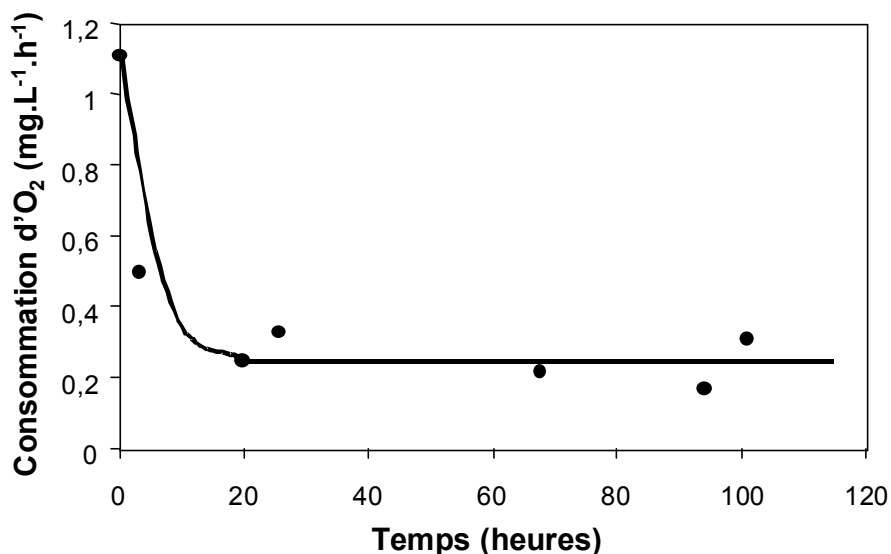


Figure 3 : Plateau de consommation d'oxygène dissous obtenu avec des boues primaires de la station d'épuration de Noisy-le-Grand

Les expériences ont été menées sur des eaux de station d'épuration (entrée et sortie) et sur des eaux de rivière. L'oxygène est suivi en continu durant 8 heures. Pour les eaux les plus chargées, nous avons procédé à une réaération du réacteur lorsque la concentration en oxygène atteignait 2 mg/L. Du fait de cette réaération, les profils d'oxygène dissous en fonction du temps se présentent sous forme de plusieurs branches successives. Ce profil de consommation d'oxygène discontinu doit être transformé en un profil continu afin de pouvoir traiter les données d'oxygène à l'aide de la procédure d'optimisation décrite ci-après. Pour cela, nous avons extrapolé la partie manquante par un segment de parabole calée sur les pentes avant et après la réaération et sur la valeur initiale d'oxygène de la deuxième branche. La branche précédant la réaération a été rehaussée d'une constante par continuité avec le segment de parabole.

En outre, nous utilisons également la mesure du carbone réfractaire (voire de la DCO réfractaire) telle qu'elle a été proposée par Servais et al. (1995) et appliquée dans des échantillons variés (eaux usées et eaux de rivière). Cette procédure a été modifiée par Tusseau et al. (2003), qui ont suggéré un ajout de nitrate à l'échantillon afin de maintenir des conditions oxydantes durant l'expérience sans bullage d'air. Une mesure de carbone organique dissous biodégradable (CODB) est obtenue par différence entre COD initial et COD réfractaire (CODR). Par différence avec le carbone organique total (ou la DCO totale), nous pouvons estimer le carbone biodégradable total (ou la DCO biodégradable totale). Nous

utilisons de préférence des mesures de DCO pour rester homogène avec les données de respirométrie (oxygène) et des données de carbone organique quand les concentrations sont trop faibles pour que les données de DCO soient fiables. Dans ce cas, un rapport DCO/C de 3 (masse:masse) est utilisé pour transformer le carbone organique en DCO (Servais et al., 1999a).

Résultats et discussion

Utilisation d'un jeu de paramètres établi a priori

Les expériences menées sur le Grand Morin fournissent une information complète (respirométrie et matières organiques dissoutes réfractaires), pour une large plage d'échantillons. Les séries de dilution utilisées au cours des expériences sont présentées dans le Tableau 2. Deux exemples de séries de données d'oxygène dissous sont donnés sur la Figure 4. Les données de COD et de DCO dissoutes sur les eaux d'entrée et de sortie des stations d'épuration ont donné un rapport de 3.13 ± 0.24 , ce qui valide, dans le contexte de ces essais, l'approximation proposée par Servais et al. (1999a).

Date	Echantillon	Série	Type	Vol boue (ml)	Vol éch. (ml)	Vol total (ml)
06.06	Couilly in	#1	Eau usée	50	50	500
06.06	Aulnoy in	#1	Eau usée	50	50	500
06.06	Couilly out	#1	Eau traitée	50	450	500
06.06	Aulnoy out	#1	Eau traitée	50	450	500
06.06	R5	#2	Eau de rivière	40	360	400
06.06	R6	#2	Eau de rivière	40	360	400
06.06	R7	#2	Eau de rivière	40	360	400
06.06	R8	#2	Eau de rivière	40	360	400
08.06	Guérard in	#4	Eau usée	30	60	390
08.06	Bouleurs in	#4	Eau usée	30	63	390
08.06	Guérard out	#4	Eau traitée	30	360	390
08.06	Bouleurs out	#4	Eau traitée	30	72	390
08.06	R1	#3	Eau de rivière	40	360	400
08.06	R10	#3	Eau de rivière	40	360	400
08.06	R13	#3	Eau de rivière	40	360	400

Tableau 2 : Dilutions utilisées au cours des expérimentations

Nous avons procédé à l'évaluation des fractions S et S_2 seulement, car S_1 peut être déduit directement de la mesure de la fraction réfractaire (CODR) dans le contexte de cette étude puisque (i) le paramètre f_{SI} , qui contrôle la production de S_1 est supposé nul (Henze et al., 2000) et (ii) on suppose que les 45 jours utilisés pour la mesure du CODR ont permis une dégradation totale des deux autres fractions S et S_2 . L'optimisation porte donc sur les composantes dégradables (S et S_2) de chacun des échantillons traités et sur la quantité de biomasse présente dans la boue utilisée pour les tests respirométriques. La boue vieillie est supposée en équilibre asymptotique alimenté par une source de carbone particulière, elle est donc caractérisée par une seule variable (Dispan et al., article 1). On fera l'hypothèse que la

boue est restée en état stationnaire au cours de chaque journée d'essais, et qu'elle peut donc être caractérisée par une seule variable pour tous les essais d'une journée. Nous prenons en compte, au cours de ce calcul, le fait que la même boue est utilisée pour une série d'essais. Nous choisissons naturellement de la caractériser à partir de X_H , la quantité de biomasse qu'elle contient. Le modèle est utilisé avec le jeu de paramètres proposé par Dispan et al. (article 3) à partir d'un calage réalisé sur des eaux usées urbaines.

Nom	Unité	Valeur	Nom	Unité	Valeur
k_{STO}	h^{-1}	0.261	f_{SI}	-	0
K_S	$g-COD.m^{-3}$	0.05	Y_H	-	0.798
k_H	h^{-1}	0.246	Y_{STO}	-	0.7
K_X	-	1	F_{XI}	-	0.2
$\mu^* = \mu/K_{STO}$	h^{-1}	0.774	K_{STO2}	-	0.0056
b_H	h^{-1}	0.023	K_{S2}	$g-COD.m^{-3}$	0.01
b_{STO}	h^{-1}	0.0083			

Tableau 3 : Jeu de paramètres proposé par Dispan et al. (article 3).

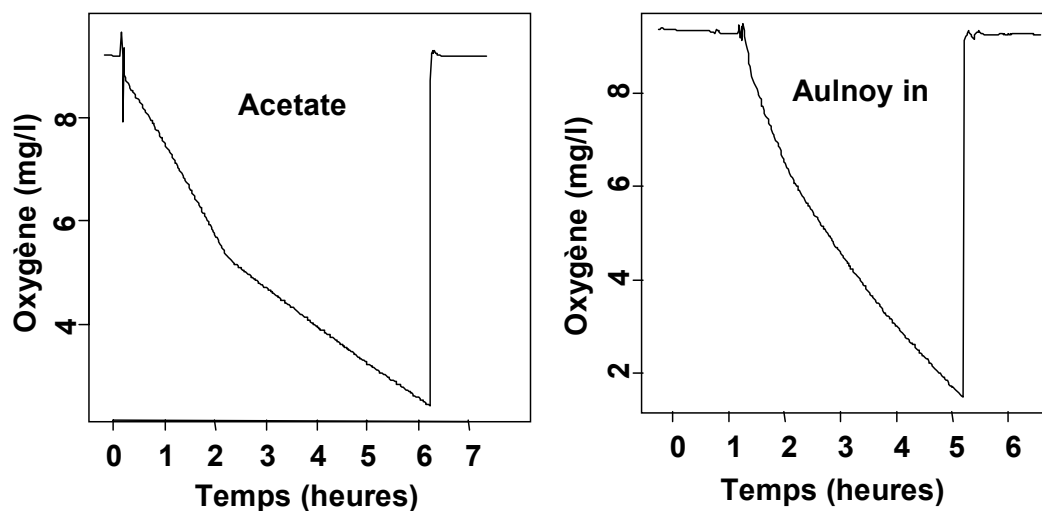


Figure 4 : Exemples d'évolution des teneurs en oxygène au cours des expériences. En présence d'acétate, on distingue parfaitement l'instant où l'acétate est épuisé caractérisé par une rupture de pente. Une telle rupture n'apparaît pas après ajout d'un échantillon d'eaux usées filtrées, pour lequel la diminution de vitesse de consommation est beaucoup plus progressive.

Les conditionnements obtenus au voisinage du minimum sont de $5 \cdot 10^5$ et $5 \cdot 10^4$ pour les essais les 6 et 8 juin respectivement. Les écarts-type estimés pour les différentes variables sont faibles (Tableau 4, boues homogènes), ce qui indique que les variables optimales sont évaluées avec précision sous l'hypothèse du jeu de valeur des paramètres qui a été proposée. Les résultats simulés sont présentés sur la Figure 5. Nous avons choisi de présenter les données obtenues et simulées sous forme de vitesse de consommation d'oxygène (OUR, Oxygen Uptake Rate) car cette forme de présentation est plus exigeante, d'une part parce que l'effet de cumul des consommations est absent de ces courbes, à la différence des suivis d'oxygène, d'autre part parce que les consommations n'ont pas été directement utilisées dans le calcul de la fonction coût optimisée basée sur les concentrations.

	Boues homogènes				Boues libres			
	S	S2	Xh	F ¹	S	S2	Xh	F
Couilly in	51.1±0.7	10.5±0.7	163.3±0.9	0.44	44.7	16.9	195	0.35
Aulnoy in	148.3±1.2	41±1.2	-id-	4.29	74.7	115	317	2.30
Couilly out	2.50±0.11	7.87±0.15	-id-	0.06	3.64	6.73	138	0.05
Aulnoy out	6.44±0.21	16.85±0.23	-id-	0.08	5.45	17.9	178	0.08
R5	1.01±0.09	0.40±0.09	-id-	0.10	0.75	0.64	171	0.01
R6	1.00±0.13	0.66±0.13	-id-	0.03	1.06	0.60	162	0.03
R7	0	1.70±0.04	-id-	1.40	0.68	1.00	131	0.06
R8	0	2.07±0.04	-id-	0.91	1.36	0.70	128	0.01
Blanc de boue				2.0				
Bouleurs in	124.1±0.9	23.6±0.9	355±3.3	25.7	83.1±4.4	64.6±4.4	613	11.5
Guérard in	82.4±1.0	23.8±1.0	-id-	5.0	53.0±1.6	53.1±1.6	546	0.79
Bouleurs out	35.3±0.9	13.4±0.9	-id-	6.3	49.0±0.2	6.6±0.1	189	5.36
Guérard out	2.7±0.3	11.1±0.3	-id-	0.2	5.6±0.2	8.3±0.2	257	0.06
R1	2.10±0.13	0.55±0.10	-id-	1.7	1.27	1.32	406	0.01
R10	1.77±0.11	0.54±0.08	-id-	2.8	1.82	0.39	409	0.05
R13	0	1.96±0.07	-id-	9.2	0.97	0.96	264	0.05
Blanc de boue				5.8				

Dans le cas des essais en boue homogène, bien que l'optimisation de la fonction coût soit globale pour chaque journée d'essai, ce qui permet d'optimiser une teneur en biomasse unique dans le stock de boue, la contribution de chacun des essais à la fonction coût peut être calculée.

Tableau 4: Comparaison des fractionnements obtenus en fixant les taux de dilution des boues au taux expérimental, ou en considérant qu'une boue d'activité indépendante de celle des autres essais est utilisée pour chaque échantillon (équivalent à des dilutions inconnues).

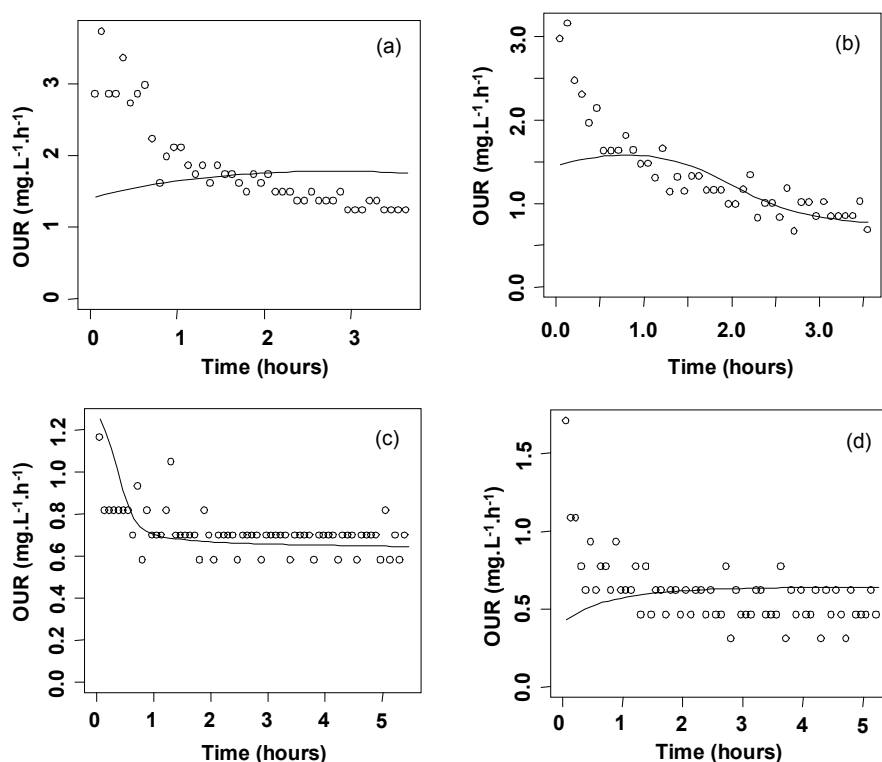


Figure 5 : Résultats de simulations obtenus avec le jeu de paramètres de départ, pour quelques échantillons caractéristiques. (a) Eaux usées traitées en entrée de la station d'Aulnoy, (b) eaux usées en entrée de la station de Couilly, (c) eaux de rivière, station R5, (d) eaux de rivière, station R8.

Les graphes de résultats obtenus sont peu satisfaisants. Deux problèmes majeurs apparaissent dans ces simulations. D'une part les fortes OUR initiales sont mal simulées par le modèle. Ce problème était déjà apparu au cours d'essais précédents réalisés sur des eaux usées urbaines (Dispan et al., article 3), mais il était partiellement masqué par la plus forte plage des valeurs de S/X (rapport Substrat sur Biomasse) utilisées dans les essais. D'autre part, certaines simulations à faible teneur en DCO donnent des OUR croissants au démarrage. Dans ces simulations, la teneur initiale optimisée en S est nulle et la croissance de l'OUR correspond à un ré-équilibre de la boue après dilution. En effet, à l'équilibre asymptotique, à la différence de toutes les autres variables qui caractérisent le système, la teneur en S est uniquement définie par les valeurs des paramètres indépendamment des valeurs des autres variables et n'est pas proportionnelle à X_H . Après dilution, en l'absence d'un autre apport de S par l'échantillon optimisé à 0, S est plus bas que sa valeur asymptotique et tendra donc à augmenter d'où un OUR affaibli par cet effet de stockage de matières organiques dans le système. Les données portent à croire qu'il aurait été préférable que les OUR simulées aient démarré à des valeurs plus élevées pour décroître ensuite, ce qui aurait pu se produire si les valeurs de S optimisées à $t=0$ n'avaient pas été nulles.

Effet de k_{STO2} sur les évaluations

Alors que les variables caractéristiques de la dégradation de l'acétate (choisi comme substrat facilement dégradable modèle) et des boues primaires de la station de Noisy-le-Grand (utilisées également au cours de ces essais) ont été obtenus sur des milieux bien caractérisés au laboratoire, les paramètres qui caractérisent le compartiment lentement dégradable S_2 usées ont été obtenues pour un nombre limité d'échantillons d'eaux usées dont on ignore la représentativité, et on peut s'interroger sur la validité de ces paramètres quand on sort du contexte dans lequel ils ont été établis (eaux usées d'un réseau unitaire, Dispan et al., article 3). Nous avons donc procédé à de nouvelles évaluations des caractéristiques des eaux du bassin du Grand Morin à partir de valeurs modifiées du paramètre k_{STO2} . K_{S2} étant très faible, et peu significatif comparé aux valeurs de S_2 dans la plupart des simulations, nous avons choisi de ne pas étudier l'impact de sa variabilité.

Les résultats obtenus sont rapportés sur la Figure 6. Ils montrent que quelle que soit la valeur choisie pour k_{STO2} , pourvu qu'elle soit suffisamment faible, le partage entre S et S_2 est bien défini et sensiblement indépendant de k_{STO2} pour la plupart des échantillons. De fait, comme K_{S2} est très petit (0.01 mg.L^{-1}) par rapport aux ordres de grandeur de S_2 , la consommation de S_2 est pratiquement constante et égale à son maximum, soit $k_{STO2} \times X_H$, sauf sur des échantillons de rivière où le S_2 initial estimé est dans certains cas suffisamment faible pour

que la valeur K_{S2} puisse être approchée en cours d'essai. Etant donnés les ordres de grandeur de X_H dans les essais, et pour la valeur proposée par Dispan et al., l'OUR due à l'absorption de S_2 par la biomasse est au maximum de l'ordre de $0.1 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ de DCO, dont 30% environ se traduisent par une consommation directe d'oxygène étant donnés les rendements de croissances utilisés. 15% d'OUR supplémentaire sont possibles si les bactéries utilisent très rapidement le substrat absorbé pour leur croissance. Cette faible consommation due à S_2 ($0.045 \text{ mg-O.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$) est peu sensible pour les échantillons chargés, i.e. typiquement les eaux usées, pour lesquels les plus fortes OUR sont mesurées malgré la dilution.

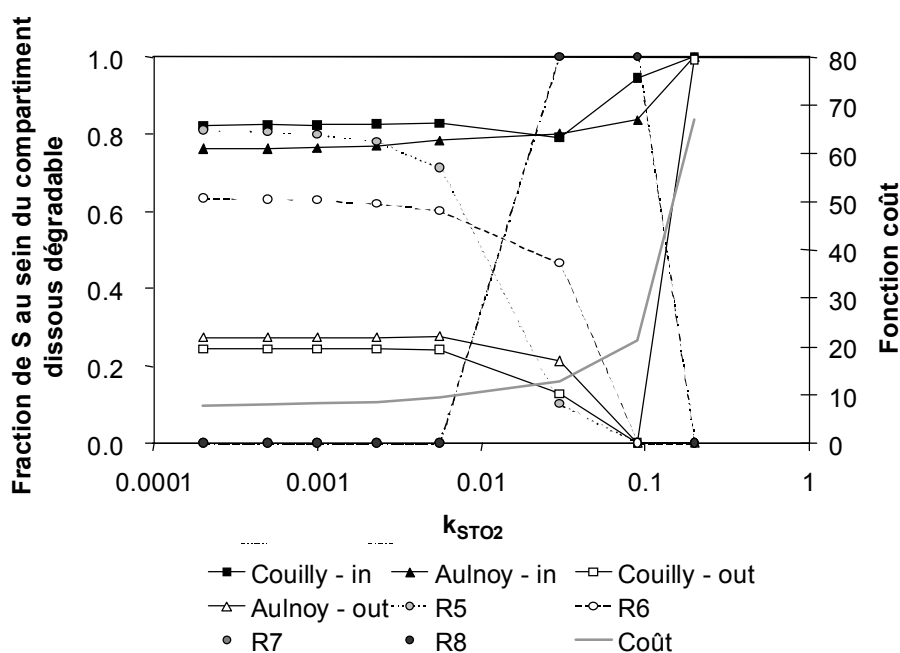


Figure 6 : Evolution du fractionnement entre S et S_2 en fonction de la valeur choisie pour k_{STO2} . La valeur fixée pour k_{STO} est de 0.261 h^{-1} dans ces simulations. (a) Série du 06 juin (b) série du 08 juin.

Pour des valeurs de k_{STO2} plus élevées, le partage entre S et S_2 devient plus erratique et apparaissent des solutions tout ou rien (tout en S ou tout en S_2) pour tous les échantillons. On pouvait effectivement s'attendre à ce que la distinction entre S et S_2 soit d'autant plus délicate que les deux paramètres k_{STO} et k_{STO2} se rapprochent. On rappelle que k_{STO} vaut 0.261 h^{-1} , il semble qu'un facteur nettement supérieur à 10 entre les deux constantes soit nécessaire pour que les variables correspondantes puisse être correctement distinguées. Il existe donc une valeur limite de k_{STO2} à ne pas dépasser. En dessous de cette limite, k_{STO2} devient non significatif alors que S et S_2 sont définis de manière satisfaisante. Par ailleurs, la valeur de la fonction coût optimale augmente significativement pour les valeurs trop élevées de k_{STO2} , ce qui montre bien qu'il est indispensable de préserver une fraction lentement dégradable dans le modèle même si sa dégradation reste très limitée à l'échelle des essais réalisés. Faute de cette fraction, la quantité consommée durant l'expérience approchera le carbone dégradable total,

ce qui, les rendements d'assimilation et de croissance étant fixés, occasionne une consommation d'oxygène trop forte.

Des résultats comparables sont obtenus pour une deuxième série d'expériences menées de la même façon à partir d'échantillons collectés dans le bassin du Grand Morin, mais à une autre date, avec une autre boue primaire vieillie (Figure 6).

Etant la faible valeur de k_{STO2} , le rôle de S_2 est donc principalement de faire le pont entre la fraction rapidement dégradable (S), pour laquelle l'essai procure une grande quantité d'information et la fraction réfractaire (S_I) évaluée grâce au CODR. Cependant l'information concernant la dynamique réelle de dégradation de cette fraction est très faible dans les essais, ce qui explique que k_{STO2} soit très peu sensible dès lors qu'il est assez faible, et que la fenêtre expérimentale choisie ne permette pas de l'évaluer.

Problème des S initiaux nuls

Pour certains essais, l'ajustement optimal obtenu donne des valeurs de S nulles. Comme l'OUR dû à S_2 est limité et de surcroît sensiblement constant, la dynamique de l'OUR simulé est alors dominée par le retour à l'équilibre de la solution de boue, et S tend à augmenter pour retrouver son niveau asymptotique en présence de biomasse. L'examen de ces cas particuliers montre que l'OUR mesuré en fin d'expérience y est plus faible que dans l'essai à blanc, à la même dilution, mais sans ajout de matières dégradables. Il paraît peu probable que des effets de toxicité soient à l'origine de ce phénomène car les eaux de rivière du Grand Morin sont très peu chargées en produits toxiques. De même, il nous semble improbable que des éléments nutritifs limitent l'activité de la boue, d'une part parce que les éléments minéraux dissous contenus sont présents dans la boue en grande quantité, d'autre part parce que le même phénomène n'est pas observé pour toutes les eaux du Grand Morin. On peut donc considérer que dans ces essais la dilution de la boue était imparfaite, d'où un OUR final trop faible. Un problème d'homogénéité de la boue, malgré les précautions prises, doit expliquer le résultat. De fait, la Figure 3 montre des variations relativement fortes dans le temps au cours de la phase de plateau, dans une expérience typique. Au cours des essais menés sur le Grand Morin, deux blancs successifs, à quelques heures d'intervalle, durant la journée du 8 juin, ont donné un écart de consommation d'oxygène de 25%, ce qui suggère effectivement que l'homogénéité n'est que relative. Par ailleurs cependant, d'autres essais préliminaires avaient montré une très bonne reproductibilité de la respiration des boues au cours d'essais menés en parallèle à partir d'un même stock de boue avec un écart-type des pentes obtenues par volume unitaire de biomasse inférieur à 5% pour des dilutions de boue allant de 5:100 à 30:100. L'origine de

l'effet d'homogénéité reste donc peu claire aujourd'hui, mais nous sommes contraints de la prendre en compte dans les estimations.

Pour évaluer l'importance de ce problème, de nouvelles optimisations ont été entreprises en modifiant a priori le facteur de dilution de la boue pour les essais critiques (R7 et R8). Les résultats (Tableau 5) montrent que le fractionnement entre S et S₂ est très sensible à la quantité de boue utilisée pour les simulations pour les essais en question (R7, R8), et modifie également dans une moindre mesure le fractionnement pour tout l'ensemble des mesures réalisés à partir du même stock de boue. En effet, en diminuant numériquement la dilution de certains échantillons, la quantité de biomasse optimale dans la boue augmente évidemment en contre-partie (de 163 mg.L⁻¹, elle passe à 172 puis 180 mg.L⁻¹ quand les dilutions de R7 et R8 passent à 45 et 38.5 ml pour 500 ml au lieu des 50 ml de départ). Il en résulte que la consommation endogène dans la boue est plus forte pour tous les autres échantillons ce qui est compensé par une diminution de l'OUR dû à S et donc de la valeur optimisée de S initial. En contrepartie, S₂ doit augmenter pour compenser la diminution de S dans le bilan des matières organiques dégradables qui reste constant.

	Standard		Dilu 38.5		Dilu 45	
	S	S2	S	S2	S	S2
Couilly_in	51.1	10.5	47.8	13.9	49.5	12.2
Aulnoy_in	148.3	41	136.9	52.5	142.5	46
Couilly_out	2.50	7.87	1.78	8.60	2.14	8.23
Aulnoy_out	6.44	16.85	5.26	18.13	5.84	17.6
R5	1.01	0.40	0.31	1.07	0.72	0.67
R6	1.00	0.66	0.19	1.47	0.60	1.05
R7	0	1.70	0.32	1.34	0	1.68
R8	0	2.07	0.88	1.17	0	1.85

Tableau 5 : Essais du 6 juin, optimisation réalisées pour différentes dilutions des boues : Dilu 38.5 = 38.5 ml au lieu de 50 pour les essais R7 et R8 dans les OUR finaux (quasi-stabilisés) sont plus faibles qu'attendus. Le rapport entre l'OUR final mesuré et l'OUR attendu en fonction de l'OUR du blanc de la dilution de 50 ml est d'environ 38.5/50. Dilu 45, le taux de dilution de R7 et R8 a été porté à 45 ml.

La sensibilité du fractionnement entre S et S₂ est sensible à la quantité de boue présente, ou à la dilution de la boue d'une manière équivalente, mais le niveau de sensibilité est très dépendant de la quantité de matières dégradables présentes. Reprenant les résultats présentés au Tableau 5, en excluant les échantillons R7 et R8 pour lesquels la solution proposée par l'optimisation n'est pas acceptable, on peut exprimer les variations du fractionnement en fonction des quantités de biomasse (Tableau 6). Il apparaît clairement que la sensibilité de l'estimation de S et S₂ à la ligne de base est très forte pour les essais menés en présence des plus faibles quantités de matières, des erreurs d'estimation de près de 50% pouvant être obtenues pour une erreur de 10% seulement sur le blanc ou la dilution de la boue.

	Valeur de base (mg.L ⁻¹)	Dans le milieu expérimental (mg.L ⁻¹)	Ecart absolu (mg.L ⁻¹)	Ecart relatif (%)	Ecart absolu (mg.L ⁻¹)	Ecart relatif (%)
Boue	163.3	16.3	8.5	5.2%	17.2	10.5%
	S+S ₂ (mg.L ⁻¹)		Ecart sur S (mg.L ⁻¹)	en % de S+S ₂	Ecart sur S (mg.L ⁻¹)	en % de S+S ₂
Couilly in	61.7	6.2	1.7	2.8%	3.4	5.5%
Aulnoy in	189.3	18.9	5	2.6%	12.5	6.6%
Couilly out	10.4	9.4	0.46	4.4%	0.73	7.0%
Aulnoy out	23.4	21.1	0.75	3.2%	1.28	5.5%
R5	1.39	1.3	0.39	28.1%	0.7	50.4%
R6	1.66	1.5	0.4	24.1%	0.81	48.8%

Tableau 6 : Impact des erreurs sur la quantité de biomasse (ou son activité) sur l'estimation du fractionnement entre S et S₂

A l'extrême, considérer que toutes les dilutions sont incertaines revient à considérer que les boues initiales sont différentes pour chaque essai. Les simulations ont été réalisées ("boues libres"), elles aboutissent à des résultats toujours significatifs, avec une convergence aisée (Tableau 4). La valeur de teneur en boue la plus discordante par rapport aux optimisations réalisées à taux de dilution fixé est obtenue pour l'échantillon "Aulnoy in". De fait, la simulation est assez mauvaise pour cet échantillon car le modèle ne parvient pas à simuler la valeur élevée de consommation d'oxygène initiale. La respiration maximale est atteinte pour cet échantillon, et la valeur de k_{STO} est clairement trop faible ce qui amène une quantité de biomasse beaucoup plus élevée quand cette dernière est laissée libre. Les échantillons de rivière pour lesquels des S initiaux nuls étaient optimisés (R7, R8 et R10), sont bien ceux pour lesquels les plus faibles quantités de biomasses sont obtenues. Pour les deux échantillons "Guérard in" et "Bouleurs in" les quantités de biomasse optimisée sont également très fortes comparées aux autres échantillons. Pour ces échantillons, les dilutions moins fortes que pour les échantillons d'eau usée traités le 06 juin occasionnent une consommation plus élevée dans l'absolu. Le modèle et ses paramètres ne parviennent pas à simuler les fortes consommations initiales, qui sont au delà des consommations maximales possibles, ce que le processus d'optimisation compense par un excès de boues.

Retour sur les paramètres liés à S

Les résultats précédents représentent les meilleurs résultats qu'on peut obtenir sans remettre en cause les conclusions acquises avec de l'acétate comme composant modèle, représentant la fraction la plus rapidement dégradable des matières organiques dissoutes. Cependant, on note sur les simulations que les consommations initiales sont très mal représentées, avec notamment des consommations beaucoup trop faibles en début d'essai pour les plus fortes teneurs en COD. Ceci nous amène à remettre en cause la représentativité de l'acétate comme modèle des matières organiques rapidement dégradables.

Des optimisations ont donc été tentées pour optimiser les paramètres caractérisant la vitesse de dégradation de S (paramètres k_{STO} et K_S). En fonction des conclusions précédentes, ces simulations sont accomplies en considérant les boues utilisées dans chaque essai comme différentes, pour tenir compte de l'inhomogénéité déjà mise en évidence. Pour simplifier le modèle, les poids p_S et p_{S_2} ont été fixées à 1 car, les constantes cinétiques étant ajustées, il n'y a pas lieu d'ajouter une telle contrainte, essentiellement compensable par l'ajustement. Evidemment, cette procédure multiplie les variables à optimiser simultanément, elles sont au nombre de 61 (toutes les valeurs initiales de S, S_2 , oxygène dissous et biomasse dans les essais, plus les deux paramètres à optimiser). Les optimisations ne peuvent pas être menées séparément car tous les sous-problèmes correspondant chacun à un essai sont reliés entre eux par les valeurs de k_{STO} et K_S à optimiser globalement. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le Tableau 7. Etant donné le grand nombre de valeurs à optimiser et la forte corrélation entre certaines d'entre elles la procédure d'optimisation est évidemment lourde, mais la technique de minimisation par gradient conjugué avec calcul du gradient par modèle l'adjoint parvient à atteindre un minimum. Toutes les valeurs propres du hessien y sont positives, ce qui témoigne de la convexité de la fonction coût autour du point atteint.

La somme $S+S_2$ était toujours très proche de la DCO totale dégradable (erreur relative inférieure à 0.007 %). La contrainte imposée par la mesure de la DCO dégradable étant presque parfaitement respectée, bien qu'elle ne compte que pour très peu dans la fonction coût (une seule mesure par essai), on peut chercher à simplifier le problème en introduisant une relation déterministe entre S et S_2 , et en supprimant donc une des deux variables, S_2 en l'occurrence. Le nombre de grandeurs à optimiser passant de 61 à 47. Le gain en temps CPU pour l'optimisation reste cependant limité.

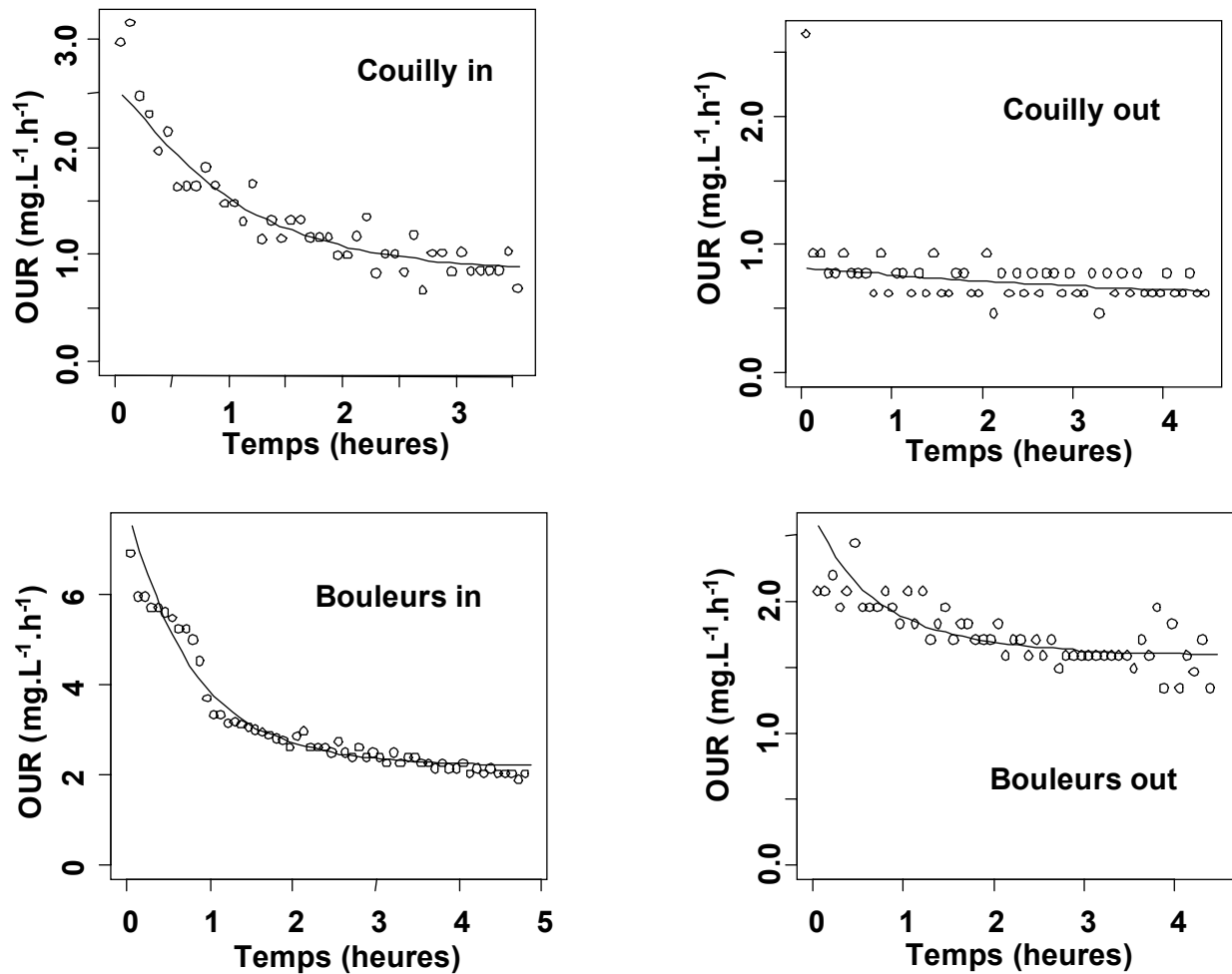


Figure 7 : OUR simulées pour les eaux d'entrée et de sortie des stations de Couilly et Bouleurs après ajustement des paramètres liés à S. Dans ces simulations, les quantités de boues sont considérées comme indépendantes pour chaque essai, ce qui correspond à une quantité de biomasse initiale à caler également, comme S et S₂.

La qualité des simulations est très nettement améliorée, comme en témoignent à la fois les graphes (Figure 7) et les valeurs de la fonction coût pour chacune des expérimentations (Tableau 7). Au contraire, sous l'hypothèse des boues homogènes, les résultats obtenus en calant k_{STO} et K_S ne sont que faiblement améliorés en comparaison avec les résultats obtenus avec les paramètres initialement proposés par Dispan et al. (article 3) (Tableau 7, Figure 8).

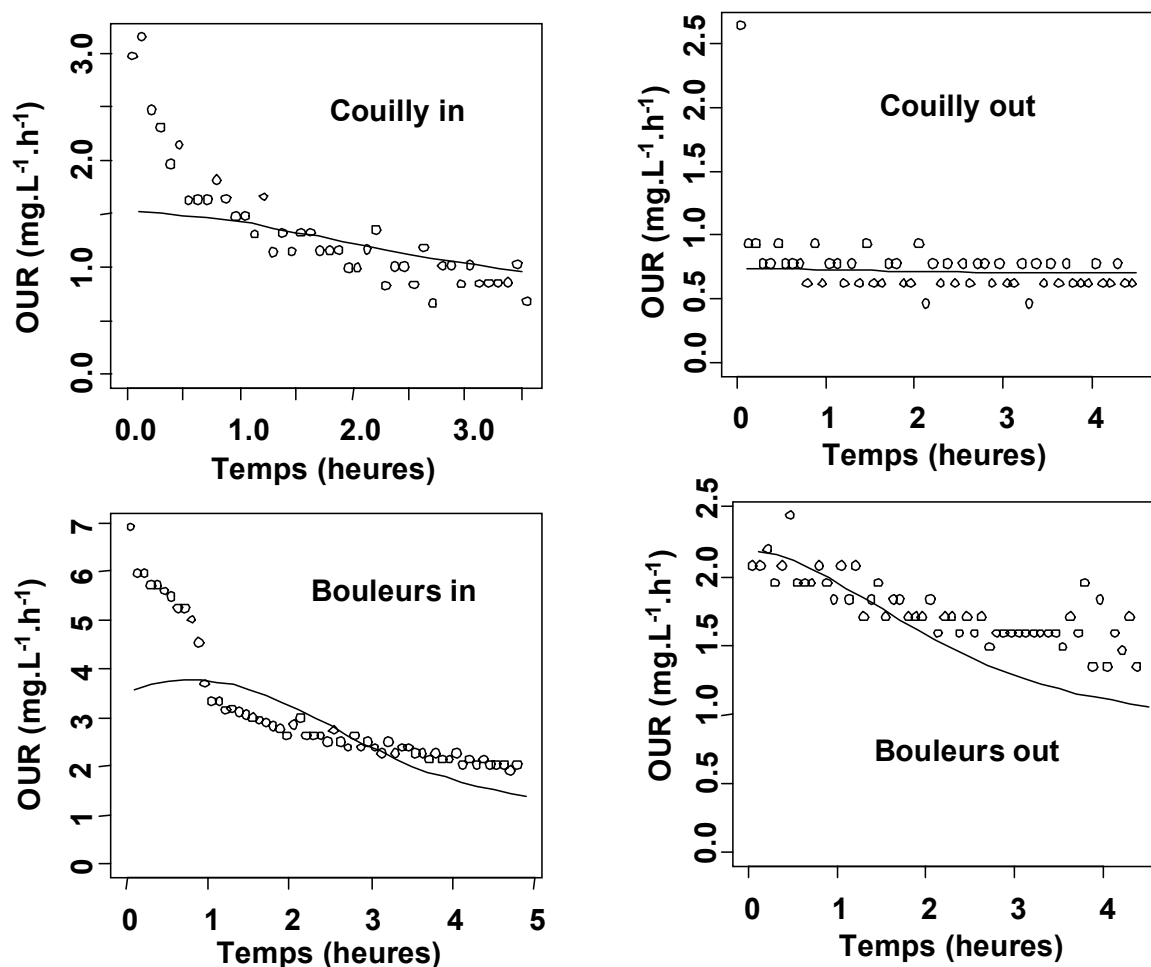


Figure 8 : Ajustements obtenus sous l'hypothèse de boues homogène après ajustement de tous les paramètres liés à S . Chaque mot de boues (du 06 juin et du 08 juin) est considéré comme homogène.

La qualité des ajustements est évidemment bien moins bonne lorsque les boues sont supposées homogènes, en particulier parce que le nombre de variables à caler est nettement supérieur dans le cas des boues individualisées, puisque chaque teneur en biomasse dans chaque boue devient une variable. La qualité des ajustements est tout à fait satisfaisante (Figure 7) quand les boues sont individualisées, bien que les paramètres cinétiques de l'assimilation de S et S_2 soient communs à toutes les simulations. On a là un protocole opérationnel. On ne saurait cependant oublier que les essais sont été fait à partir de boues identiques (même batch de boues vieilles) ou proches (tirées du même bassin de la même station), et que les parfois très fortes différences obtenues remettent en cause la qualité du modèle ou des paramètres liés à la biomasse sur lesquels nous avons choisi de ne pas revenir faute d'informations suffisantes.

	Boues individualisées			F	Boues homogènes		
	X _H (mg.L ⁻¹)	S (mg.L ⁻¹)	S ₂ (mg.L ⁻¹)		S (mg.L ⁻¹)	S ₂ (mg.L ⁻¹)	F
Couilly in	209.9±3.2	42.3±1	19.4±1	0.27	61.7±0.2	0	0.69
Aulnoy in	305.4±3.6	53.4±1	136±1	0.07	104.3±2	85±2	1.0
Couilly out	162±2.3	1.44±0.1	8.94±0.11	0.03	1.4±0.17	8.98±0.26	0.06
Aulnoy out	89.1±3.2	5.49±0.23	17.9±0.2	0.04	2.18±0.19	21.2±0.3	0.02
R5	173.2±0.6	1.14±0.06	0.25±0.06	0.006	1.39±0.16	0±0.17	0.03
R6	162.7±0.7	1.63±0.11	0.02±0.11	0.06	1.16±0.16	0.50±0.17	0.17
R7	124.7±0.9	1.35±0.07	0.32±0.07	0.03	0	1.67±0.06	1.04
R8	123.1±0.7	2.05±0.04	0.01±0.04	0.04	0	2.06±0.06	0.83
Bouleurs in	699.4±1.9	67.3±0.4	80.5±0.4	0.25	147.9±0.1	0	6.74
Guérard in	648.6±1.6	31.9±0.4	74.3±0.4	0.09	106.2±0.1	0	4.74
Bouleurs out	524.1±2	13.3±0.3	35.4±0.3	0.07	48.9±0.1	0	3.89
Guérard out	124±2	8.77±0.14	5.09±0.14	0.10	1.52±0.16	12.3±0.2	0.14
R1	404.8±1.3	1.51±0.07	1.08±0.07	0.008	2.67±0.04	0	1.32
R10	416.0±0.8	2.19±0.1	0.02±0.10	0.08	2.35±0.04	0	2.89
R13	262.8±0.8	1.43±0.05	0.50±0.05	0.01	0	1.92±0.04	4.83

Tableau 7 : Résultats des optimisations avec des boues individualisées (les valeurs optimales de k_{STO} et K_S sont $0.49\pm0.02\text{ j}^{-1}$ et $6.1\pm0.4\text{ mg.L}^{-1}$) ou homogènes pour chaque série de mesures (les valeurs optimales de k_{STO} et K_S sont $0.76\pm0.04\text{ j}^{-1}$ et $18.3\pm1.6\text{ mg.L}^{-1}$). Toutes données sur le bassin du Grand Morin traitées simultanément.

Rôle de la donnée CODR (SI)

Tous les résultats obtenus ci-dessus font appel à des données de CODR. Mais cette mesure pose un double problème : d'une part elle nécessite des expérimentations longues, qui ne posent pas de difficulté théoriques mais demeurent contraignantes par leur durée (45 jours), d'autre part, le CODR mesuré en fin d'expérience de dégradation pourrait contenir une fraction de carbone réfractaire générée en cours d'expérience à partir de la biomasse bactérienne et donc surestimer le CODR initial. La version de ASM3 que nous utilisons (comme toutes les versions d'ASM3 publiées) suppose le phénomène de production de S_I à partir de la dégradation de la biomasse négligeable, et en ce sens l'interprétation simplifiée des mesures de CODR que nous faisons au cours de ces essais est cohérente avec le modèle utilisé. Mais d'autres modèles ne font pas cette hypothèse, et le reliquat de DCO dissoute en sortie de station à boue activée est souvent interprété comme le fruit d'une néo-production de DCO réfractaire par les boues. On peut donc souhaiter se passer des données de CODR qui pourraient introduire un biais d'interprétation.

On peut s'attendre à ce que les mesures de consommation d'oxygène fournissent une information suffisante pour estimer S. Dans cette hypothèse, la donnée de la DCOR ne servirait qu'à estimer S_2 par différence entre la DCO totale S et la DCOR. L'influence de la donnée DCOR sur l'évaluation de S mérite d'être vérifiée. Par ailleurs, bien que S_2 soit peu dégradé durant les essais, les données d'OUR sont susceptibles de contenir plus d'information

que ce qui est strictement nécessaire pour estimer S , et donc de fournir de l'information sur S_2 . Pour mesurer l'importance de la donnée CODR dans le processus d'estimation, des tests ont été réalisés en modifiant les valeurs mesurées du CODR afin d'en mesurer les conséquences sur les estimations de S et S_2 . D'autres tests ont été menés en supprimant complètement l'information CODR.

Les essais ont été réalisés à partir des données collectées en entrée et en sortie de la station de Couilly. On observe une plage des DCO résiduelles (DCOR) autour de la valeur centrale mesurée. Dans les deux cas, on observe un page de stabilité de la valeur estimée de S , au niveau de la valeur estimée à partir de la DCOR réelle. Ce résultat est encourageant car il laisse entendre que S pourrait être évalué en l'absence de mesures de DCOR sous réserve qu'un palier puisse être observé.

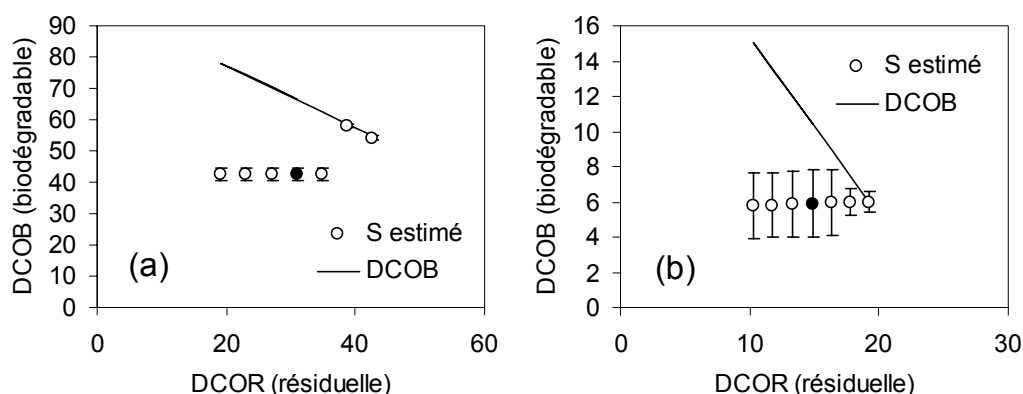


Figure 9 : Propagation des erreurs liées à la DCOR. Illustration à partir des données de la station de Couilly en entrée (a) et sortie (b). La valeur centrale mesurée figure par un point noir, les points blancs qui l'entourent simulent des erreurs d'évaluation de la DCO résiduelle (DCOR).

Les échantillons d'eau de Marne que nous avons collectés à différentes périodes de l'année permettent d'illustrer ce propos. Les résultats des estimations sont portés sur la Figure 10 qui montre effectivement des plages de stabilité de l'estimation de S . On obtient ainsi des estimations de S de 1.4 mg.L^{-1} en mars, avant la période de bloom printanier, soit 20% de la DCO dissoute totale, de 2.2 ou 1.8 mg.L^{-1} et juin soit 27 ou 23 % de la DCO dissoute totale (un répliquat exclu) et 3.0, 4.1 ou 4.5 en septembre soit 23, 31 ou 34% de la DCO dissoute totale pour les trois répliquats. Il s'agit ici à notre connaissance des toutes premières évaluations d'une fraction rapidement dégradable au sens "épuration" dans des eaux de rivière.

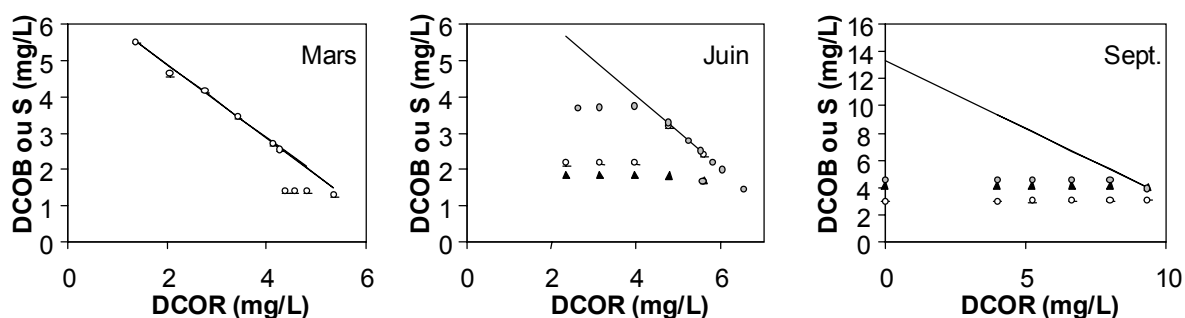


Figure 10 : Estimation de S pour des échantillons d'eau filtrée de la Marne. En juin et septembre, trois répliquats de chaque échantillon ont été traités. Pour chaque expérience, plusieurs hypothèses sont faites sur le DCOR. Un plateau est toujours observé.

Discussion et conclusion

Au cours de ces travaux, nous avons cherché à utiliser un protocole homogène pour évaluer les caractéristiques de dégradabilité d'une série d'échantillons d'eaux usées, d'eaux traitées et d'eaux de rivière. De telles évaluations sont en effet nécessaires pour simuler de manière intégrée l'impact des réseaux d'assainissement sur les milieux récepteurs, ce qui suppose que des variables d'état caractérisant la qualité des eaux puissent être définies de manière homogène et déterminées dans chacun des milieux.

Nous avons opté pour une méthode respirométrique, car ce type de méthode est relativement rapide et simple à mettre en œuvre, et fréquemment utilisé dans le domaine de l'assainissement. Pour pouvoir travailler sur des eaux peu chargées telles des eaux de rivière, nous avons opté pour la variante dite "single OUR" proposée par Xu et Hasselblad (1996). Dans cette méthode, la bilan d'oxygène n'est pas biaisé par des périodes de réoxygénation nécessairement moins bien contrôlées.

Ainsi que nous l'avons montré dans l'introduction, une variable telle que la "matière organique rapidement dégradable" devrait certainement être définie en référence à un modèle dont les constantes cinétiques permettent de définir la variable. La bonne méthode de mesure consiste alors à rechercher le jeu de variables initiales qui permettent de simuler au mieux les résultats de l'expérience respirométrique, et d'en déduire une valeur optimale de la variable "matières organiques rapidement dégradables". Dans ces conditions, la mesure dépend évidemment du modèle. Nous avons choisi de travailler avec le modèle ASM3 récemment proposé par l'IWA (Gujer et al., 1999), que nous avons légèrement modifié pour prendre en compte l'existence d'au moins deux classes de MO dégradables dans la fraction dissoute que nous étudions ici.

Les résultats obtenus n'ont pas permis d'aboutir au protocole idéal, mais ils illustrent un certain nombre d'écueils qui permettent soit de définir un protocole opérationnel qui demeurent insatisfaisant par certains cotés, soit de mettre en lumière les progrès encore

nécessaire en termes de modélisation du processus de dégradation d'un ensemble hétérogène de matières organiques par une population bactérienne mixte.

Les caractéristiques de dégradabilité (fractionnement, vitesse) dépendent à la fois des matières organiques à dégrader et de la biomasse utilisée pour la dégradation. Ce double constat amène naturellement un problème méthodologique majeur, qui consiste à être capable de maintenir en culture une population bactérienne mixte, plus ou moins représentative, de façon à tester la dégradabilité de différents échantillons d'eau mis en présence d'une population inhomogène mais reproductible. Comme dans la plupart des études, nous considérons que les bassins d'une station d'épuration constituent un site où des échantillons assez reproductibles de biomasse peuvent être collectés. A la différence de beaucoup d'autres travaux qui utilisent des boues secondaires des bassins d'aération, nous avons choisi de collecter des échantillons de boues primaires, chargés en matières organiques particulières et lentement dégradables, susceptibles de maintenir la population dans un état relativement stationnaire en termes d'intensité de la respiration, plus facile à caractériser.

Dans la plupart des travaux relevés dans la littérature, lorsque ceux-ci utilisent toutefois un modèle pour procéder aux estimations, beaucoup de variables sont ajustées aux données de respirométrie, y compris les quantités de biomasse injectées, et parfois les caractéristiques physiologique de cette biomasse, telles que la vitesse maximale d'absorption des substrats ou le taux de croissance. Pourtant, ces derniers paramètres définissent la vitesse à laquelle la biomasse est capable d'assimiler des matières organiques, et donc la dégradabilité. Pour obtenir des résultats comparables, il serait a priori souhaitable d'utiliser des paramètres constants, sous réserve évidemment que les biomasses elles-mêmes puissent être considérées comme étant de caractéristiques constantes. C'est l'hypothèse forte, qui se justifie quand les biomasses utilisées proviennent du même lot, soit de même station d'épuration, voire plus encore de la même culture stabilisée. Dans l'hypothèse faible, les quantités de biomasse injectées dans chaque essai sont considérées comme mal contrôlées. Dans l'hypothèse très faible, ni les quantités, ni les caractéristiques (paramètres physiologiques) de la biomasse ne sont considérés comme connus et doivent donc être ajustés.

Dans l'hypothèse forte, la caractérisation de la dégradabilité des matières organiques des échantillons très peu chargés, tels que les eaux de rivière, est extrêmement sensible à une évaluation précise de la quantité de biomasse injectée. Or, l'expérience a prouvé que le prélèvement de volumes identiques de boue dans un échantillon constamment mélangé à quelques minutes d'intervalles ne permettait pas toujours d'atteindre la précision souhaitée. On a donc là une difficulté importante pour l'application du protocole dans tout le continuum

réseau-station-rivière. Dans l'hypothèse faible, le problème ne se pose évidemment plus et des estimations peuvent être obtenues. Évidemment, il est souhaitable que la quantité de biomasse, qui devient une inconnue dans l'hypothèse faible, ne soit pas trop différente de la valeur attendue par un calcul de dilution.

L'hypothèse forte ne permet pas d'aboutir à des résultats satisfaisants, qu'on parte d'hypothèses a priori sur les paramètres, ou que des paramètres soient ajustés à l'ensemble des expériences réalisées. Les variables sont estimées avec des écarts-types relativement faibles, mais sous l'hypothèse que le modèle est correct, ce qui n'est pas le cas comme le montre les graphes des simulations. Le fait que l'hypothèse forte ne puisse pas être retenue amène à remettre en cause soit le modèle lui-même, soit l'hypothèse que les biomasses utilisées proviennent du même pool.

L'hypothèse très faible est évidemment susceptible de donner les résultats les plus satisfaisants, car beaucoup des paramètres sont éventuellement ajustés. Deux arguments s'opposent à ce point de la discussion. On peut considérer que l'hypothèse très faible ne répond qu'imparfaitement au problème posé car la quantité de matières organiques rapidement dégradables dépend évidemment des paramètres cinétiques utilisés. Les résultats obtenus ne seraient donc en réalité pas comparables d'un essai à un autre. À cet argument, s'oppose l'idée que la biomasse utilisée n'étant pas reproductible, il est nécessaire que les paramètres cinétiques soient modifiés. Ceci suggère qu'une étape de calibration de la biomasse est alors nécessaire, le matériel représentatif et reproductible nécessaire devant encore être défini, ce qui alourdit le protocole.

L'hypothèse faible (paramètres cinétiques fixés mais activité de la biomasse inconnue) permet d'aboutir à ces résultats qui font référence à des constantes cinétiques données, elle demeure donc largement préférable à l'hypothèse très faible. Cependant, le manque d'évaluation de la biomasse reste critique car la vitesse de dégradation et donc l'évaluation d'une fraction rapidement dégradable dépend à la fois du substrat mais aussi de la biomasse. Même dans cette hypothèse, une caractérisation de la biomasse s'avère en réalité nécessaire. L'hypothèse faible consiste en réalité à l'évaluer par ajustement sur une seule série de mesures de type "single OUR". Les résultats expérimentaux analysés dans cet article montrent que cette évaluation demeure peu fiable hélas.

Références bibliographiques

Dircks K., Henze M., Van Loosdrecht M.C.M., Mosbaek H. and Aspegren H. (2001). Storage and degradation of poly- β -hydroxybutyrate in activated sludge under aerobic conditions. *Water Research*, **35**(9):2277-2285.

Ekama G.A., Dold P.L. and Marais G.v.R. (1986). Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems. *Water Science and Technology*, **18**:91-114.

Faure C. and Papegay Y. (1998). *Odyssee User's guide*. Version 1.7. Rapport technique n°0224, INRIA, pp 81.

Gujer, W., Henze, M., Mino, T. and Van Loosdrecht, M. C. M. (1999) Activated sludge model No.3. *Wat. Sci. Tech.* **39**, 138-194.

Henze M., Gujer W., Mino T. and Van Loosdrecht M.C.M. (2000). Activated sludge model No.3. in "Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3" edited by the IWA task group on mathematical modeling for the design and operation of biological wastewater treatment. IWA Publishing, pp 121.

Majone M., Dircks K. and Beun J.J. (1999). Aerobic storage under dynamic conditions in activated sludge processes. The state of the art. *Water Science and Technology*, **39**(1):61-73.

Mamais D., Jenkins D. and Pitt P. (1993). A rapid physico-chemical method for the determination of readily biodegradable soluble COD in municipal wastewater. *Water Research*, **27**(11):195-197.

Servais P., Barillier A. and Garnier J. (1995). Determination of the biodegradable fraction of dissolved and particulate organic carbon in waters. *Annales Limnologie*, **31** 75-80.

Servais P., Seidl M. and Mouchel J.-M., (1999). Comparison of parameters characterizing organic matter in a combined sewer during rain events and dry weather. *Water Environmental Research*. **71**, 408-417.

Thacker W.C. (1989). The role of hessian matrix in fitting models to measurements. *Journal of Geophysical research*, 94-C5:6177-6196.

Tusseau M.H., Dispan J., Mouchel J.M. et Servais P. (2003). Biodegradable fraction of organic carbon estimated under oxic and anoxic conditions. *Water Research*, 37:2242-2247.

Vanrolleghem P.A., Spanjers H., Petersen B., Ginestet P. et Tackacs I. (1999). Estimating (combinations of) activated sludge model N°1 parameters and components by respirometry. *Water Science and Technology*, 39(1):195-214.

Xu S. and Hasselblad S. (1996) A simple biological method to estimate the readily biodegradable organic matter in wastewater. *Water Science and Technology* **30**, 4, 1023-1025.

Zhu C., Byrd R.H., Lu P., Nocedal J., 1994. L-BFGS-B: a limited memory FORTRAN code for solving bound constrained optimization problems', Tech. Report, NAM-11, EECS Department, Northwestern University.