UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

OPTIMISATION DE LA CYCLOLOGIE D'UN PROCÉDÉ DE DÉPHOSPHATATION BIOLOGIQUE EN RÉACTEUR BIOLOGIQUE SÉQUENTIEL PAR MÉTHODE RESPIROMÉTRIQUE

ALAIN LAROSE
DÉPARTEMENT DE GÉNIE CHIMIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE PHILOSOPHIAE DOCTOR (Ph.D.)
(GÉNIE CHIMIQUE)
JANVIER 1998

©Alain Larose, 1998.

National Library of Canada
Bibliothèque nationale du Canada

Acquisitions and Bibliographic Services
Acquisitions et services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-33010-9

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

OPTIMISATION DE LA CYCLOLOGIE D'UN PROCÉDÉ DE DÉPHOSPHATATION BIOLOGIQUE EN RÉACTEUR BIOLOGIQUE SÉQUENTIEL PAR MÉTHODE RESPIROMÉTRIQUE

Présentée par : LAROSE Alain
en vue de l'obtention du diplôme de : Philosophiae Doctor
a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. LEGROS Robert, Ph.D., président
M. PERRIER Michel, Ph.D., membre et directeur de recherche
M. COMEAU Yves, Ph.D., membre et co-directeur de recherche
M. LESSARD Paul, Ph.D., membre
M. VANROLLEGHEM Peter, Ph.D., membre

L'amélioration des êtres et des choses est provoquée par l'Amour que l'on donne et par celui que l'on reçoit.
*(*extrait du Yi King ou *Le livre des transformations)*

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier mon directeur, Michel Perrier et mon co-directeur, Yves Comeau pour l'appui, la confiance et la patience qu'ils ont su manifester à mon égard et pour la latitude qu'ils m'ont donnée tout au long de ces études de doctorat. Je veux également souligner ma reconnaissance envers les membres du jury, Messieurs, Robert Legros, Paul Lessard et Peter Vanrolleghem pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture et à la critique de ma thèse ainsi qu'envers les représentants du doyen, Messieurs Richard Gourdeau et Daniel Leblanc.

Je voudrais exprimer ma gratitude envers le CRSNG, les Fonds FCAR, l'AQTE ainsi qu'à mes directeurs pour l'appui financier alloué au cours de ces 5 années d'étude.

Je tiens également à faire part de mon amitié et de ma considération envers toutes les personnes qui ont contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce travail (Marguerite, Vanessa, Jérôme, Denis, Lucie, Robert, Gino, Marie-Claire et tous les autres). Un salut tout particulier à mes amis qui, par leur présence, leurs encouragements, leur bonne humeur, leurs conseils et leur amour ont rendu ces années très agréables et enrichissantes.

Une mention particulière à M. Raymond Mayer qui a été le premier à croire en mes capacités et m'a fait découvrir ce domaine de recherche.

Je veux enfin dire un MERCI tout spécial à mes parents qui, tant dans les bons moments que dans les mauvais moments, ont été très compréhensifs, ont toujours été présents pour m'écouter et me conseiller, ont été très patients et n'ont jamais cessé de m'encourager dans la réalisation de mes projets.

SOMMAIRE

La déphosphatation biologique est un mode de traitement des eaux usées permettant d'éliminer le phosphore par l'intermédiaire de bactéries capables d'emmagasiner ce polluant sous forme de polyphosphates intracellulaires. Ce procédé peut être mis en œuvre à l'aide d'un réacteur biologique séquentiel (RBS) dont le mode de fonctionnement offre une grande versatilité.

Peu de travaux portent sur l'optimisation et le contrôle en ligne des performances d'enlèvement du phosphore pour ce type de procédé. Le manque de capteurs adéquats constitue une des raisons qui limitent le développement de nouvelles stratégies de contrôle. De plus, le procédé de déphosphatation biologique est complexe et fait intervenir plusieurs réactions et de nombreuses variables.

Le suivi du taux de consommation en oxygène dissous et le développement de méthodes respirométriques pour la caractérisation de la dynamique des procédés biologiques offrent toutefois la possibilité de mettre au point de nouveaux outils pour le suivi de la dynamique du procédé de déphosphatation biologique.

D'autre part, l'efficacité du procédé de déphosphatation biologique varie en fonction de la composition de l'eau usée à traiter. Afin de pallier aux variations de la concentration en acides gras volatils ou en phosphore des affluents, la capacité d'accumulation des PHA par les bactéries déphosphatantes pourrait être mise à profit.

Dans ce contexte, les objectifs de cette thèse étaient de développer une méthode respirométrique pour le suivi en ligne de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en RBS, d'évaluer le potentiel d'utilisation des changements observés dans la dynamique du taux de consommation en oxygène

dissous au cours de la période aérobie pour le contrôle de sa durée et de déterminer si le contrôle de la durée de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique en RBS permettrait d'augmenter la concentration en PHA et améliorer les performances ainsi que la robustesse du procédé.

La présence de carbone rapidement biodégradable (acétate) dans des échantillons retirés du RBS au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique est révélée par la chute du taux de consommation en oxygène dissous au cours d'un test de respirométrie. Le moment où l'acétate disparaît dans le réacteur est déterminé par l'absence de cette chute dans le patron du respirogramme et l'atteinte d'un taux de consommation en oxygène dissous inférieur à celui observé pour les premiers échantillons. Les techniques respirométriques peuvent donc être utilisées, non seulement pour la caractérisation et le contrôle des procédés aérobies, mais également pour le suivi de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en RBS.

Les changements observés dans la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous au cours de la période aérobie sont reliés à des états spécifiques du procédé. Ainsi, le moment correspondant à la fin de l'accumulation du phosphore, à cause d'une limitation en phosphore ou en PHA, peut être déterminé par un changement de pente dans la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous. Une chute brutale du taux de consommation en oxygène dissous est observée au moment de la disparition d'une quantité de carbone rapidement biodégradable présente au début de la phase aérobie. La dynamique du glycogène ne correspond pas à celle observée dans la littérature mais ne semble pas affecter celle de l'oxygène dissous.

Des tests en laboratoire ont démontré que pour un rapport DCO/P à la limite des conditions adéquates pour l'enlèvement complet du phosphore, il serait difficile d'augmenter la concentration des PHA contenus par les bactéries déphosphatantes. La

compétition entre différents microorganismes pour le substrat carbonné réduit le rendement de production de PHA par les bactéries déphosphatantes.

Le modèle de Smolders ne reproduit pas adéquatement les dynamiques observées en laboratoires. Une modification du modèle est nécessaire et il demeure quand même des différences majeures au niveau des concentrations atteintes. Ce modèle a toutefois été utilisé pour l'étude, par simulations, des performances d'une nouvelle stratégie d'opération du procédé de déphosphatation biologique basée sur le maintien d'une concentration élevée en PHA.

La stratégie de contrôle permettrait de réduire le temps nécessaire à l'accumulation complète du phosphore pour un rapport de 25 mg DCO/mg P. L'efficacité d'enlèvement du phosphore pourrait être maintenue pendant environ 48 cycles après une chute du rapport DCO/P à l'alimentation. L'enlèvement complet du phosphore serait possible pour une alternance du rapport DCO/P (15 et 25 mg DCO/mg P) de cycle en cycle. Toutefois, une limite maximum de concentration existe pour ces mêmes rapports et pour laquelle la stratégie de contrôle n'a que peu d'influence sur les performances du procédé, sans toutefois les détériorer.

Bien que la dynamique réelle du procédé global de déphosphatation biologique soit plus complexe que celle du modèle utilisé pour les simulations, l'application de la stratégie de contrôle permettrait d'améliorer les performances d'enlèvement du phosphore, d'éliminer une plus grande quantité de phosphore quotidiennement et de réduire la dimension des installations de biotraitement.

ABSTRACT

Biological phosphorus (bio-P) removal is a process in which phosphorus is removed from wastewater by bacteria able to store polyphosphates intracellularly. This process can be achieved in a sequencing batch reactor (SBR) which offers a versatile mode of operation.

Few studies concerning on-line control and optimization of this process in terms of the phosphorus removal performance have been reported. The lack of adequate sensors is one reason limiting the development of new control strategies. Bio-P removal is a complex process and its description comprises numerous reactions and variables.

The measurment of the oxygen uptake rate and development of respirometric methods for the characterization of biological processes offer the possibility to develop new tools for the monitoring of the bio-P removal process dynamics.

Bio-P removal process efficiency varies according to the composition of wastewater to be treated. To compensate variations in the influent volatile fatty acids and phosphorus concentrations, the accumulation of poly-β-hydroxyalcanoates (PHA) by bio-P bacteria could be enhanced.

The objectives of the thesis were to develop a respirometric method for on-line monitoring of an SBR bio-P removal process, to evaluate the potential of using on-line respirometric data obtained during the aerobic period of a rapid-fill SBR bio-P process and to determine if an improved control of the aerobic period duration of a rapid-fill SBR bio-P process could increase the level of PHA reserves and improve process performance and robustness.

The presence of rapidly biodegradable chemical oxygen demand (COD) (acetate) in samples withdrawn from the SBR during the anaerobic period of an SBR bio-P process is revealed by a sharp fall in the oxygen uptake rate (OUR) during a respirometric test. The completed acetate uptake in the SBR is indicated by the disappearance of this fall in the OUR profile and the reach of an OUR level lower than those of the first samples. Respirometry can be used to monitor and control aerobic processes but also the anaerobic period of an SBR bio-P removal process.

Changes observed in the OUR profile during the aerobic period are linked to specific states of the process. In the case of a phosphorus or a PHA limiting condition, the end of aerobic phosphorus uptake can be determined by a change of slope in the OUR profile. A sharp fall in the OUR profile is observed when rapidly biodegradable COD, present at the start of the aerobic period, is completly consume during the aerobic period. Although glycogen dynamics do not correspond to those reported in literature they do not seem to influence the OUR profile.

For a COD/P ratio situated at a limiting level to obtain complete phosphorus uptake, laboratory experiments showed that it would be difficult to increase the PHA concentration into bio-P bacteria. Competition for carbonaceous substrate between different microorganisms results in a reduction of the yield of PHA production by bio-P bacteria.

The model proposed by Smolders *et al.* (1995) does not represent adequatly the dynamics observed experimentally. Modification of the model is necessary but the results, in terms of reached concentrations, remains quite different. Original model was used, by means of simulations, to study the performance of a new operating strategy based on the preservation of a high PHA concentration in bio-P bacteria.

The control strategy would result in reduction of the time necessary to complete phosphorus uptake for a ratio of 25 mg COD/mg P. Phosphorus removal efficiency could be maintained during up to 48 cycles after a drop in the influent COD/P ratio. Complete phosphorus uptake could be attained under conditions of an alternating influent COD/P ratio (15 and 25 mg COD/mg P) from cycle to cycle. However, a maximum concentration limit exists for the same ratio alternation for which the control strategy does not improve process performance.

Implementation of the control strategy would result in improved phosphorus removal performance, therefore increasing daily removed phosphorus amounts and allowing to reduce the size of the biological reactor.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS v
SOMMAIRE vi
ABSTRACT ix
TABLE DES MATIÈRES xii
LISTE DES TABLEAUX xvii
LISTE DES FIGURES xviii
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS xxvi
LISTE DES ANNEXES xxix

CHAPITRE I: INTRODUCTION 1
1.1 Problématique 1
1.1.1 Définition du problème 1
1.1.2 Suivi du procédé de déphosphatation biologique par méthode respirométrique 4
1.1.3 Contrôle de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique 5
1.2 Objectifs du travail 8
1.3 Plan de la thèse 10

CHAPITRE II: REVUE DE LA LITTÉRATURE 12
2.1 Les réacteurs biologiques séquentiels 12
2.2 La déphosphatation biologique 14
2.2.1 Mécanismes de la déphosphatation biologique 15
2.2.2 Modélisation du procédé de déphosphatation biologique 19
2.3 La respirométrie 22

CHAPITRE III: MATÉRIELS ET MÉTHODES **26**
3.1 Montage expérimental 26
3.2 Logiciel de contrôle 27
3.3 Composition de l'alimentation 29
3.4 Cyclologie et opération du réacteur 30
3.5 Respiromètres 32
3.6 Méthodes analytiques 33
3.7 Démarche expérimentale 33
3.7.1 Conditions d'opération 33
3.7.2 Mise en route du réacteur 34

CHAPITRE IV: RESPIROMETRIC CONTROL OF THE ANAEROBIC PERIOD DURATION OF AN SBR BIO-P PROCESS **37**

MANUSCRIT #1: RESPIROMETRIC CONTROL OF THE ANAEROBIC PERIOD DURATION OF AN SBR BIO-P PROCESS **38**
4.1 Abstract 38
4.2 Keywords 38
4.3 Introduction 39
4.4 Materials and methods 40
4.4.1 Feed 40
4.4.2 SBR Bio-P process 41
4.4.3 Cycle description 42
4.4.4 Respirometry 42
4.4.5 Analytical methods 43
4.5 Results and discussion 43
4.5.1 OUR characterization batch test 43
4.5.2 SBR anaerobic period respirometric test 45
4.6 Conclusion 50

4.7 Acknowledgments 50
4.8 References 50

CHAPITRE V: RESPIROMETRIC CHARACTERIZATION OF THE AEROBIC PERIOD OF AN SBR BIO-P PROCESS 53

MANUSCRIT #2: RESPIROMETRIC CHARACTERIZATION OF THE AEROBIC PERIOD OF AN SBR BIO-P PROCESS 54
5.1 Abstract 54
5.2 Keywords 54
5.3 Introduction 55
5.4 Materials and methods 57
5.4.1 Feed 57
5.4.2 SBR bio-P process 57
5.4.3 Cycle description 59
5.4.4 Respirometry 59
5.4.5 Analytical methods 59
5.4.6 Operating conditions 61
5.5 Results and discussion 62
5.5.1 Phosphorus limiting conditions 62
5.5.2 PHA limiting conditions 66
5.5.3 Limitation in the anaerobic period duration 69
5.6 Discussion 71
5.7 Conclusion 72
5.8 Acknowledgments 73
5.9 References 73

CHAPITRE VI: CONTROL OF THE AEROBIC PERIOD DURATION FOR THE OPTIMIZATION OF AN SBR BIO-P PROCESS 78

MANUSCRIT #3: CONTROL OF THE AEROBIC PERIOD DURATION FOR THE OPTIMIZATION OF AN SBR BIO-P PROCESS 79

6.1 Abstract 79

6.2 Keywords 80

6.3 Introduction 80

6.4 Materials and methods 83

6.4.1 Lab-scale reactor experiments 83

6.4.2 Feed 83

6.4.3 SBR Bio-P process 84

6.4.4 Cycle description 85

6.4.5 Analytical methods 85

6.4.6 Numerical method 86

6.5 Results 89

6.5.1 Lab-scale reactor experiments 89

6.5.2 Model study 94

6.5.3 Alternating COD concentration in the feed 96

6.5.4 Simulations 96

6.5.4.1 Case 1: COD/P ratio = 25 mg COD/mg P - Treatment of an influent with 500 mg COD/l and 20 mg P/l without and with control 96

6.5.4.2 Case 2: alternating COD/P ration between 15 and 25 mg COD/mg P - Treatment of an influent with an alternating COD concentration (300 mg COD/l and 500 mg COD/l) from cycle to cycle, and 20 mg P/l without and with control 99

6.5.4.3 Case 3: alternating COD/P ration between 15 and 25 mg COD/mg P - Treatment of an influent composed with 500 mg COD/l and an alternating phosphorus concentration (20 mg P/l and 33 mg P/l) from cycle to cycle without and with control. 100

6.6 Discussion 103

6.7 Conclusions 106

6.8 Acknowledgments 107

6.9 References 108

CONCLUSION **112**

RECOMMANDATIONS **119**

RÉFÉRENCES **121**

ANNEXES **132**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1 Composition de l'alimentation durant la période expérimentale 29

Table 4.1 Feed composition used during the experimentation period 41

Table 4.2 SBR bio-P process characteristics corresponding to the experimental periods. 42

Table 5.1 Feed composition used during the experimental periods 58

Table 5.2 SBR bio-P process characteristics during the experimental periods..... 58

Table 6.1 Feed composition used during the operation of the SBR bio-P process 84

Table 6.2 Kinetics of the anaerobic and aerobic phase of the biological phosphorus removal process (according to Smolders *et al.*, 1995). (ratio of internal storage components : $f_i=C_i/C_x$)..... 87

Table 6.3 Matrix of reactions rates (r), stoechiometric coefficients (α^{an}, α^{aer}) and active biomass specific rates (q) of the reaction for the model of Smolders *et al.* (1995). 88

Table 6.4 SBR bio-P process characteristics during the experimental periods..... 91

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1 Principe de fonctionnement et cyclologie opératoire d'un réacteur biologique séquentiel. 14

Figure 3.1 Schéma du montage expérimental 28

Figure 4.1 Effect of aerating a bio-P sludge fed with acetate as the only carbon source in the influent on the profile of A) o-PO_4, B) filtered COD, C) dissolved oxygen and D) oxygen uptake rate. 44

Figure 4.2 Operation of two respirometers in parallel in order to detect a fall in the respiration rate dynamics corresponding to the end of the assimilation of filtered COD. Acetate concentration was 500 mg COD/l. Samples were taken every 15 minutes and aerated for 30 minutes. A) OUR from the first respirometer, B) OUR from the second respirometer, C) filtered COD and o-PO_4 of the sample taken from the SBR, D) time needed to reach the fall and the new level in the OUR. 46

Figure 4.3 Operation of two respirometers in parallel in order to detect a fall in the respiration rate dynamics corresponding to the end of the assimilation of filtered COD. Acetate concentration was 300 mg COD/l. Samples were taken every 15 minutes and aerated for 30 minutes. A) OUR from the first respirometer, B) OUR from the second respirometer, C) filtered COD and o-PO_4 of the sample taken from the SBR, D) time needed to reach the fall and the new level in the OUR. 49

Figure 5.1 Effect of a phosphorus limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 500 mg COD/l, 20 mg P/l. Cycle: 3h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5h anoxic, 1h settle and draw. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV. (----) end of phosphorus accumulation. 64

Figure 5.2 Effect of a phosphorus limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 500 mg COD/l, 20 mg P/l. Cycle: 3h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5h anoxic, 1h settle and draw. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV; E) Glycogen. (-----) end of phosphorus accumulation; (•••••) end of nitrification. 65

Figure 5.3 Effect of a PHA limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 300 mg COD/l, 20 mg P/l. Cycle: 3h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5h anoxic, 1h settle and draw. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV; E) Glycogen. (----) end of phosphorus accumulation; (•••••) end of nitrification. 68

Figure 5.4 Effect of an anaerobic period duration limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 500 mg COD/l, 20 mg P/l. Sample was taken 15 minutes after the beginning of the anaerobic period and aerated. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV; E) Glycogen. (----) end of filtered COD uptake. 70

Figure 6.1 Lab-scale reactor experiments of an SBR bio-P process. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5 h anoxic, 1 h settle and draw. Influent at 500 mg COD/l : A) COD, B) o-PO_4, C) PHA(o), PHB (□), PHV(Δ). Influent at 300 mg COD/l : D) COD, E) o-PO_4, F) PHA (o), PHB (□), PHV (Δ). Simulation with the model of Smolders *et al.* (1995) : complet anaerobic conditions during the first 3h (····); simultaneous anaerobic and aerobic dynamics during the first 3h (----); limited aeration (surface aeration) during the first 3 h (——). 93

Figure 6.2 Simulation of the SBR bio-P process fed with 500 mg COD/l and 20 mg P/l. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 1.5 h settle and draw. Uncontrolled: A) acetate, B) phosphorus, C) PHB, D) biomass, E) glycogen. Controlled: F) acetate, G) phosphorus, H) PHB, I) biomass, J) glycogen. Control criteria : end of aerobic period at 0.1 mg P/l. 98

Figure 6.3 Simulation of the SBR bio-P process fed with 20 mg P/l and alternatively 500 and 300 mg COD/l from cycle to cycle. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 1.5 h settle and draw. Uncontrolled: A) acetate, B) phosphorus, C) PHB, D) biomass, E) glycogen. Controlled: F) acetate, G) phosphorus, H) PHB, I) biomass, J) glycogen. Control criteria : end of aerobic period at 0.1 mg P/l. 101

Figure 6.4 Simulation of the SBR bio-P process fed with 500 mg COD/l and alternatively 20 and 33 mg P/l from cycle to cycle. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 1.5 h settle and draw. Uncontrolled: A) acetate, B) phosphorus, C) PHB, D) biomass, E) glycogen. Controlled: F) acetate, G) phosphorus, H) PHB, I) biomass, J) glycogen. Control criteria : end of aerobic period at 0.1 mg P/l. 102

Figure 6.5 Performance of the control strategy on phosphorus removal efficiency and mean PHB content on a 16 hours basis (2 cycles). A) phosphorus removal capacity for processes without and with control of the aerobic period duration, B) mean PHB content of the biomass for processes without and with control of the aerobic period duration..... 104

Figure A2.1 Réponse de deux respiromètres opérés en parallèle pour un même échantillon soumis au test de respirométrie. Échantillon de 50 ml. Consignes d'aération : 50% et 70% de la saturation. Débit d'air : 0,03 l/s..... 143

Figure A2.2 Dynamique de la réponse de la sonde à oxygène dissous en fonction de la concentration réelle en oxygène dissous. Consigne d'aération : entre 50% et 60% de la saturation. K_La=2,5 min^{-1}. O.D. à saturation = 9,032 mg O_2/l. Simulations réalisées à l'aide du logiciel MATLAB™..... 144

Figure A2.3 Dynamique de la réponse de la sonde à oxygène dissous comparée à la dynamique de la concentration réelle en oxygène dissous. Consigne d'aération : entre 40% et 70% de la saturation. K_La=2,5 min^{-1}. O.D. à saturation = 9,032 mg O_2/l. Simulations réalisées à l'aide du logiciel MATLAB™..... 145

Figure A2.4 Dynamique de la DCO filtrée et de l'acétate au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel. DCO à l'alimentation = 494 mg/l (330 mg acétate/l), ... 146

Figure A2.5 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO4 des échantillons recueillis dans le réacteur 148

Figure A2.6 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO4 des échantillons recueillis dans le réacteur 149

Figure A2.7 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 150

Figure A2.8 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 151

Figure A2.9 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 300 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 152

Figure A2.10 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 300 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 153

Figure A2.11 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 300 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 154

Figure A2.12 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 50% et 70% de la saturation en O.D.. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 155

Figure A2.13 Opération d'un respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 15 minutes. Consignes d'aération : 50% et 70% de la saturation en O.D.. Débit d'air : 0,03 l/s. A) TUO, B) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 156

Figure A2.14 Opération d'un respiromètre pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 15 minutes. Consignes d'aération : 50% et 60% de la saturation en O.D.. Débit d'air : 0,03 l/s. A) TUO, B) DCO filtrée et o-PO4 des échantillons recueillis dans le réacteur..... 157

Figure A2.15 Opération d'un respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 15 minutes. Consignes d'aération : 50% et 60% de la saturation en O.D.. Débit d'air : 0,012 l/s. A) TUO, B) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur 158

Figure A3.1 Effet de l'aération de surface sur la dynamique du phosphore au cours de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel. Réalisation du test pour A) et B) : 1er cycle sans N_2 (O), 2ième cycle avec N_2 (■) , 3ième cycle sans N_2 (▲). A) et B) ont été réalisés à 9 jours d'intervalle. 160

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Acétyl CoA	Acétyl Co-enzyme A
ADP	Adénosine diphosphate
AGV	Acides gras volatils
ATP	Adénosine triphosphate
bio-P	"Biological phosphorus"
BOD	Demande biochimique en oxygène (biological oxygen demand)
C	Concentration en oxygène dissous
COD	Chemical oxygen demand
C_S	Concentratio de saturation de l'oxygène dissous
DBO	Demande biochimique en oxygène
D.O.	Oxygène dissous (dissolved oxygen)
DCO	Demande chimique en oxygène
EMP	Embden Meyerhof
FIA	Flow injection analysis
G	Glycogène (glycogen)
GAO	Organisme accumulant le glycogen (glycogen accumulating organism)
HRT	Temps de résidence hydraulique (hydraulic residence time)
IAWQ	International association on water quality
MES	Matières en suspension
MLSS	Matières en suspension (mixed liquor suspended solids)
MVES	Matières volatiles en suspension
MLVSS	Matières volatiles en suspension (mixed liquor volatile suspended solids)
NAD	Nicotinamide adenine dinucleotide (forme oxydée)
NADH	Nicotinamide adenine dinucleotide (forme réduite)
NH_4	Azote ammoniacal (ammonia)

NO_3	Nitrate
o-PO_4	Orthophosphate
OUR	Taux de consommation en oxygène dissous (oxygen uptake rate)
P	Phosphore (phosphorus)
PHA	Poly-β-hydroxyalcanoate
PHB	Poly-β-hydroxybutyrate
PHV	Poly-β-hydroxyvalérate
rbBOD	Demande biologique en oxygène rapidement biodégradable (rapidly biodegradable biochemical oxygen demand)
rbCOD	Demande chimique en oxygène rapidement biodégradable (rapidly biodegradable chemical oxygen demand)
RBS	Réacteur biologique séquentiel
SBR	Réacteur biologique séquentiel (sequencing batch reactor)
SRT	Temps de résidence cellulaire (sludge residence time)
TRC	Temps de résidence cellulaire
TUO	Taux d'utilisation de l'oxygène
TUO_{END}	Taux endogène d'utilisation de l'oxygène
TUO_{EXO}	Taux exogène d'utilisation de l'oxygène
K_La	Coefficient de transfert de l'oxygène dissous
VFA	Acides gras volatils (volatile fatty acid)
μCFA	Micro-continuous flow analysis

Modèle de Smolders *et al.* (1995)

Variables

C	Concentration
C_i	Concentration d'un composé i
k	Coefficient de rendement, (mol/mol-C/h)

K	Constante de saturation, (mmol/l)
m	Coefficient de maintenance, (mol/mol-C/h)
q	Vecteur des vitesses de réaction spécifiques à la biomasse (mol/mol-C/h)
r	Vecteur des vitesses de réaction (mol/mol-C/h)
f	Rapport des composés internes (f_i=C_i/C_x)
α	Vecteur des paramètres stoechimétriques
μ	Taux de croissance, (mol/mol-C/h)

Exposants:

aer	Aérobie (aerobic)
an	Anaérobie (anaerobic)
max	Maximum

Indices

c	Dioxyde de carbone (carbon dioxide)	CO_2
gl	Glycogène (glycogen)	$CH_{1.67}O_{0.83}$
n	Azote ammoniacal (ammonia)	NH_4
o	Oxygène (oxygen)	O_2
p	Phosphore (phosphorus)	H_3PO_4
phb	Poly-β-hydroxybutyrate	$CH_{1.5}O_{0.5}$
pp	Polyphosphate	HPO_3
s	Acétate (acetate)	CH_2O
w	Eau (water)	H_2O
x	Biomasse active (active biomass)	$CH_{2.09}O_{0.54}N_{0.20}P_{0.015}$

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE I MÉTHODES ANALYTIQUES 133

A1.1 Demande chimique en oxygène (DCO) 133

A1.2 Matières solides 133

A1.2.1 Matières en suspension (MES) 133

A1.2.2 Matières volatiles en suspension (MVES) 134

A1.3 Azote 134

A1.3.1 Azote ammoniacal 134

A1.3.2 Nitrate et nitrite (NO_3, NO_2) 134

A1.4 Phosphore 135

A1.4.1 Orthophosphates 135

A1.4.2 Polyphosphates intracellulaires 135

A1.5 Glycogène: 136

A1.6 Poly-β-hydroxyalcanoates 138

ANNEXE II TESTS DE RESPIROMÉTRIE 142

A2.1 Respiromètres 142

A2.2 Calcul des taux de consommation en oxygène dissous 143

A2.3 Dynamique de l'acétate 145

A2.4 Tests de respirométrie 147

ANNEXE III AÉRATION DE SURFACE 159

ANNEXE IV PROGRAMMES DE SIMULATION 161

A4.1 Réponse de la sonde à oxygène dissous 161

A4.1.1 Programme d'appel 161

A4.1.2 Modèle d'aération (programme appelé) 162

A4.2 Déphosphatation biologique (Modèle de Smolders *et al.*, 1995) 164
A4.2.1 Programme d'appel 164
A4.2.2 Période anaérobie (programme appelé)..... 168
A4.2.3 Période aérobie (programme appelé) 169
A4.2.4 Période de sédimentation..... 170

CHAPITRE I
INTRODUCTION

1.1 Problématique

1.1.1 Définition du problème

La déphosphatation biologique est un procédé au cours duquel le phosphore d'une eau polluée est enlevé par des bactéries capables d'emmagasiner de façon intracellulaire ce composé sous forme de polyphosphates. La première condition favorisant la croissance d'une population de bactéries déphosphatantes dans un réacteur à boues activées est la recirculation de la boue à travers une alternance de phases anaérobies et aérobies. Les polyphosphates, produits au cours de la phase aérobie, servent de source d'énergie durant la phase anaérobie, avec le glycogène (Satoh *et al.*, 1992; Mino *et al.*, 1995a; Smolders *et al.*, 1995), pour les organismes déphosphatants, leur permettant de capter et d'emmagasiner les acides gras volatils (AGV) sous forme de poly-β-hydroxyalcanoates (PHA) en l'absence d'un accepteur d'électron.

Les réacteurs biologiques séquentiels sont connus depuis longtemps pour leur grande efficacité pour le traitement d'eaux usées faiblement à fortement chargées, et ce, sans rencontrer de problèmes de matières en suspension à l'effluent. Bien que le procédé de déphosphatation biologique puisse être mis en oeuvre à l'aide de différents types de réacteurs, pour la plupart opérés en mode continu (Comeau, 1990), les réacteurs biologiques séquentiels (RBS), grâce à leur polyvalence, sont de plus en plus utilisés pour des stations traitant de faibles à moyens débits (500 à 1000 m^3/jour). Ils servent non seulement pour le traitement d'effluents réels (e.g. Okada et Sudo, 1986; Okada *et al.*, 1991; Comeau *et al.*, 1996), mais également pour des fins de caractérisation et de

modélisation (ex. : Smolders *et al.*, 1995; Murnleitner *et al.*, 1996). Cependant, peu de travaux portent sur l'optimisation et le contrôle " en ligne " du procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel et en particulier, sur l'ajustement de la durée des périodes de réaction en fonction de la charge alimentée.

L'élimination de l'azote a fait l'objet de travaux s'appuyant sur cet objectif de contrôle. Ainsi, Demuynck *et al.* (1994) proposent une stratégie d'aération permettant d'optimiser les performances des réactions de nitrification et de dénitrification au cours d'un procédé de déphosphatation biologique en RBS sans toutefois détériorer l'efficacité d'enlèvement du phosphore. Isaacs (1997) suggère, pour sa part, une stratégie de contrôle visant à ajuster automatiquement la durée des cycles et des périodes d'aérations pour des procédés de type Biodenitro et Biodenipho, afin d'améliorer encore une fois l'efficacité d'enlèvement de l'azote par nitrification/dénitrification.

La possibilité de varier la cyclologie d'un procédé mis en œuvre dans un RBS (alternance de phases anaérobie et aérobie ou anoxie) et le suivi en ligne de variables comme le potentiel d'oxydo-réduction et la concentration en oxygène dissous peuvent contribuer à l'optimisation des procédés de biotraitement. Toutefois, le procédé de déphosphatation biologique est particulièrement problématique puisque plusieurs composés interviennent dans les mécanismes qui le caractérisent. Les performances de traitement dépendent donc de plusieurs variables.

Le manque de capteurs adéquats permettant de mesurer en continu la concentration de différents composés constitue un des problèmes qui contribuent à rendre difficile le suivi en temps réel de la dynamique des procédés de biotraitement (Vanrolleghem, 1994). Il existe des appareils capables de mesurer des variables telles que la concentration en phosphore soluble, en azote ammoniacal et en nitrate en continu, en

des temps très courts (moins de 5 minutes) et de façon automatique (méthode FIA "*Flow Injection Analysis*", Isaacs et Temmink, 1996; méthode μCFA "*micro-Continuous Flow Analysis*", Lynggaard-Jensen *et al.*, 1996). Ces techniques ont démontré un grand potentiel pour le suivi de procédés destinés à l'enlèvement des nutriments. Toutefois, elles peuvent s'avérer très dispendieuses pour le suivi d'un réacteur biologique, tant à l'échelle de laboratoire qu'à l'échelle réelle, et demandent une surveillance et un entretien constants réalisés par du personnel qualifié.

Le développement de techniques respirométriques qui associent le taux de consommation en oxygène dissous des bactéries à la cinétique des réactions biologiques, rend possible l'évaluation de différents paramètres et variables comme des coefficients de croissance, de mortalité et de respiration (ex.: Vanrolleghem et Coen, 1995), la concentration en DBO (demande biochimique en oxygène) rapidement biodégradable (Spanjers *et al.*, 1993) et la toxicité d'un affluent que l'on veut traiter (Kong *et al.*, 1994; Vanrolleghem, 1994), ainsi que la concentration de la DCO (demande chimique en oxygène) rapidement biodégradable (Wentzel *et al.*, 1995). Toutefois, ces techniques s'appliquent généralement à des procédés biologiques opérés en écoulement continu et en régime permanent. De plus, dans l'opération de ces respiromètres, la biomasse servant au test de respirométrie provient généralement du système étudié. La calibration et le renouvellement de la biomasse du respiromètre doivent être effectués régulièrement afin que les mesures et les calculs effectués à partir des résultats respirométriques soient représentatifs du système étudié.

Les réacteurs biologiques séquentiels sont des procédés de type cuvée (ou cuvée alimentée), les périodes de réaction sont en général de durée déterminée et ils fonctionnent toujours en régime transitoire au cours d'un cycle de traitement. La population bactérienne est alors amenée à évoluer assez rapidement d'un cycle à l'autre, au gré de la qualité de l'eau usée à traiter et il devient difficile de standardiser

une méthode servant à l'estimation de variables. Ainsi, bien que les techniques respirométriques aient démontré leur potentiel d'utilisation pour le contrôle de procédés biologiques, l'estimation de paramètres et de variables ainsi que la calibration de modèles demeurent ardues, en particulier lorsque la complexité des mécanismes inhérents au procédé de déphosphatation biologique sont mis en jeu. Il est toutefois possible d'utiliser la réponse respirométrique d'une biomasse déphosphatante pour y puiser l'information qui permettra de suivre la dynamique du procédé, mais de façon plus qualitative.

1.1.2 Suivi du procédé de déphosphatation biologique par méthode respirométrique

Le taux de consommation en oxygène dissous est fonction, entre autre, du taux d'assimilation des différentes formes de composés carbonés plus ou moins rapidement biodégradables. Au cours de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique, le processus d'accumulation du phosphore est associé à la consommation des PHA. Lorsque cette accumulation de phosphore est complétée (cas d'une limitation en phosphore), les besoins énergétiques sont réduits et une chute du taux de consommation en oxygène dissous est observée (Wentzel *et al.*, 1987; 1989; 1992; Smolders *et al.*, 1995). Lorsque le phosphore est en excès et que son accumulation cesse au cours de la période aérobie à cause d'une pénurie de PHA, le taux de consommation en oxygène dissous chute également pour atteindre un taux toutefois supérieur à celui observé pour la respiration endogène et dépendant de réactions autres que celles associées à la déphosphatation biologique (exemple : nitrification). Par ailleurs, une chute du taux de consommation en oxygène dissous est également observée lorsqu'une certaine quantité d'acétate présente au début de la période aérobie a été complètement utilisée (Wentzel *et al.*, 1987; 1989).

Les changements observés dans la dynamique de l'oxygène dissous pourraient donc être mis à profit pour repérer la fin de réactions particulières et l'atteinte d'états spécifiques au cours du procédé de déphosphatation biologique. Ces états sont la fin de la consommation des AGV durant la période anaérobie et l'arrêt de l'accumulation du phosphore en période aérobie dû à un épuisement du phosphore en solution ou des réserves de PHA.

En période anaérobie, la détection de la présence ou de l'absence de carbone rapidement biodégradable pourrait se faire par l'entremise de tests respirométriques réalisés en parallèle avec l'opération du réacteur et dont la réponse est fonction de la quantité de carbone rapidement biodégradable dans le milieu réactionnel. En période aérobie, les changements observés dans le taux de consommation en oxygène dissous pourraient servir d'informateurs sur la dynamique du phosphore.

Le suivi en ligne des périodes anaérobies et aérobies du procédé de déphosphatation biologique permettrait d'établir des diagnostiques sur les performances du procédé et d'élaborer de nouvelles stratégies de contrôle.

1.1.3 Contrôle de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique

Le mode actuel d'opération des réacteurs biologiques séquentiels est régi par une durée de cycle (donc de période de réaction) fixe ou est réglée par les contraintes hydrauliques de l'eau usée à traiter. Au cours d'un procédé de biotraitement, ceci peut occasionner des pertes de temps et d'énergie lorsque les réactions sont terminées bien avant la fin de la durée des périodes de réaction. L'accumulation complète du phosphore avant la fin de la période aérobie au cours du procédé de déphosphatation biologique en est un exemple.

Une diminution de l'efficacité du procédé peut également survenir lorsqu'il y a des chocs de concentration à l'alimentation ou que la composition de l'eau usée à traiter est sujette à une variation cyclique qui est fonction des opérations effectuées dans les unités émettrices. En effet, un rapport minimum carbone/phosphore est nécessaire à l'enlèvement complet du phosphore. Smolders *et al.* (1995) suggèrent un rapport de 25.8 mg DCO (sous forme d'acétate)/ mg P (sous forme d'orthophosphate). Aussi, lorsque ce rapport minimum n'est pas respecté, la quantité de PHA produite en période anaérobie n'est pas suffisante pour enlever tout le phosphore en période aérobie, malgré la contribution potentielle du glycogène. La prolongation de la période aérobie ne serait alors pas nécessaire en ce qui concerne l'enlèvement du phosphore. Par ailleurs ce rapport minimum peut varier en fonction du pH (Smolders *et al.*, 1994c). À faible pH, moins d'énergie est requise pour le transport de l'acétate et sa transformation en PHA, ce qui résulte en une moins grande quantité de phosphore à accumuler au cours de la période aérobie.

Par ailleurs, au cours de la période aérobie, les PHA sont utilisés, non seulement pour la synthèse de polyphosphates, mais également pour la croissance des bactéries et la production de glycogène (Mino *et al.*, 1995a; Smolders *et al.*, 1995) et ces trois réactions sont indépendantes. Dans le cas où le rapport carbone/phosphore est adéquat pour l'enlèvement du phosphore mais que la période aérobie est trop longue, les PHA continuent d'être consommés même si le phosphore a été complètement accumulé par les bactéries déphosphatantes. À la fin de la période aérée, s'il reste des PHA, ceux-ci ne constituent alors qu'une faible réserve pour pallier aux variations dans la composition de l'alimentation. Afin d'assurer une bonne efficacité d'enlèvement du phosphore, il est possible d'ajouter de l'acétate en début de cycle ou de favoriser la fermentation du carbone lentement biodégradable (Randall *et al.*, 1994; Comeau *et al.*, 1996).

Le contrôle de la durée de la période aérobie semble offrir la possibilité de contourner ce même problème. En effet, en profitant de la capacité des bactéries déphosphatantes à accumuler des PHA lors de conditions adéquates (pour un rapport DCO/P>25.8 mg DCO/mg P par exemple (Smolders *et al.*, 1995)) et en favorisant le stockage de ce composé à un niveau élevé en limitant sa consommation au cours de la période aérobie, une réserve de PHA pourrait être constituée. Cette réserve serait disponible en tout temps et permettrait de compléter l'accumulation de phosphore pour les cycles défavorisés par leur rapport carbone/phosphore à l'alimentation.

1.2 Objectifs du travail

Le désir de suivre en temps réel la dynamique du procédé de déphosphatation biologique et de contrôler ce procédé révèle un manque d'outils adéquats, en particulier de capteurs qu'il paraît nécessaire de combler. Bien que la mesure en ligne des concentrations en phosphore et en azote soit réalisable, il semble possible d'utiliser une technique respirométrique pour observer les états du procédés de déphosphatation biologique de façon qualitative. Par ailleurs, peu d'études systématiques sur les stratégies d'opération du réacteur biologique séquentiel ont été élaborées et étudiées afin d'améliorer les performances et la robustesse du procédé de déphosphatation biologique. La capacité des bactéries déphosphatantes de produire et d'emmagasiner des PHA pourrait être mise à profit afin de pallier aux variations de la composition d'une eau usée à traiter.

Dans cette perspective, ce projet de recherche vise à répondre à trois objectifs principaux :

- *Développer une méthode respirométrique pour le suivi " en ligne " de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel.* La méthode étudiée est basée sur les observations faites par Wentzel *et al.* (1987; 1989) sur la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous suite à l'ajout d'une source d'acétate en phase aérobie. La détection de la consommation complète du carbone rapidement biodégradable en période anaérobie semble pouvoir être réalisée à l'aide d'une série de tests respirométriques en cuvée, effectués en parallèle avec le procédé. La caractérisation des respirogrammes et l'analyse de la DCO et du phosphore serviront à confirmer les observation faites sur l'évolution de la dynamique de l'oxygène dissous en fonction de la concentration en DCO rapidement biodégradable dans le réacteur.

- *Évaluer le potentiel d'utilisation des mesures du taux de consommation en oxygène dissous disponibles au cours de la période aérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel pour le contrôle de la durée de la période aérobie.* Les observations faites par Wentzel *et al.* (1987; 1989; 1992) et Smolders *et al.* (1995) fournissent une certaine quantité d'information sur la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous d'une culture enrichie en biomasse déphosphatante. Toutefois, d'autre réactions peuvent avoir lieu en même temps que la déphosphatation biologique (ex : nitrification) et certaines hypothèses se doivent d'être vérifiées concernant la dynamique des PHA et du glycogène. Une étude de la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous sera donc effectuée pour différents scénarios. Cette dynamique sera comparée avec celles de la DCO soluble, du phosphore, de l'azote ammoniacal, des nitrates, des PHA et du glycogène. L'évolution du taux de consommation en oxygène dissous pourra alors être détaillée et permettra d'interpréter les changements observés. Une stratégie d'opération sera élaborée.

- *Étudier les performances d'une stratégie d'optimisation du procédé de déphosphatation biologique en RBS basée sur la limitation de la consommation des PHA en période aérobie.* Selon les connaissances actuelles concernant les bactéries déphosphatantes, il serait possible de favoriser l'accumulation des PHA au cours de cycles alimentés avec un rapport carbone/phosphore adéquat (DCO/P>25,8 mg DCO/mg P, Smolders *et al.*, 1995) Les PHA ainsi accumulées serviraient alors pour compléter le captage du phosphore au cours de cycles déficients au niveau du rapport carbone/phosphore à l'alimentation. L'étude sera réalisée par l'entremise de simulations faites à partir du modèle de Smolders *et al.* (1995). La stratégie de contrôle proposée consiste à arrêter la période aérobie au moment où le phosphore n'est plus accumulé. Des essais en réacteur et la caractérisation de la DCO, du

phosphore et des PHA aideront à évaluer le potentiel d'application de la stratégie de contrôle.

1.3 Plan de la thèse

Cette thèse décrit le développement d'une méthode respirométrique pour le suivi d'un procédé de déphosphatation biologique en RBS et l'étude d'une nouvelle stratégie de contrôle pour l'amélioration de l'efficacité et de la robustesse de ce procédé. La problématique et les solutions préconisés ont été établies en introduction.

Une brève revue de la littérature constituant une synthèse de l'information et des connaissances requises pour une meilleure compréhension du sujet étudié est présentée au chapitre 2. Les thèmes abordés sont les réacteurs biologiques séquentiels (section 2.1), le procédé de déphosphatation biologique (section 2.2) et les techniques respirométriques (section 2.3).

Le matériel et les méthodes qui ont servi à la réalisation de ce projet sont décrites au chapitre 3.

Un article intitulé : "Respirometric control for the anaerobic period duration of an SBR bio-P process" est présenté au chapitre 4. Cet article décrit le développement d'une méthode respirométrique utilisée pour le suivi de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en RBS.

Un second article intitulé : "Respirometric characterization of the aerobic period of an SBR bio-P process " est présenté au chapitre 5. L'étude et la caractérisation de la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous au cours de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique y sont décrites.

Un troisième article intitulé : "Control of the aerobic period duration for the optimization of an SBR bio-P process" est présenté au chapitre 6. Dans cet article sont présentés des résultats de simulations basées sur le modèle de déphosphatation biologique proposé par Smolders *et al.* (1995). Les performances d'une stratégie de contrôle basée sur l'optimisation de la durée de la période aérobie et l'accumulation de PHA y sont décrites.

Les conclusions de ce travail seront présentées au chapitre 7 et quelques recommandations seront énoncées au chapitre 8.

CHAPITRE II
REVUE DE LA LITTÉRATURE

Ce chapitre a pour but de présenter une revue de la littérature complémentaire aux éléments énoncés dans l'introduction. Le fonctionnement des réacteurs biologiques séquentiels et leur usage (section 2.1), le procédé de déphosphatation biologique (section 2.2) ainsi que les techniques de respirométrie et leur utilisation actuelle (section 2.3) y sont décrites. Bien que de nombreux travaux aient portés sur ces différents sujets, cette revue ne se veut pas exhaustive mais permet de rendre compte des développements et des connaissances actuels concernant le sujet étudié et donne l'information nécessaire à la compréhension des mécanismes mis en jeu et des hypothèses émises durant l'élaboration et la réalisation de ce projet.

2.1 Les réacteurs biologiques séquentiels

Les réacteurs biologiques séquentiels (RBS) sont des systèmes de biotraitement par boues activées de type "fill and draw". Leur utilisation permet de traiter tous les types d'eaux usées qu'un procédé par boues activées conventionnel, opéré en continu, peut recevoir. Il est aussi possible de choisir une cyclologie appropriée au traitement désiré et de la modifier aisément afin d'améliorer les performances du procédé. Leur principe de fonctionnement peut même être adapté au traitement de composés récalcitrants et de sols contaminés (ex.: Cassidy et Irvine, 1997).

Les opérations impliquées dans les deux types de système de biotraitement (continu et RBS) sont identiques. En effet, dans les deux cas il est fréquent de retrouver des étapes de mélange, de réactions, de décantation et de purge de surnageant. Toutefois, une grande différence distingue les deux systèmes. Celle-ci réside dans le fait que

dans les procédés opérés en continu, les différentes opérations (égalisation, réaction, décantation) sont effectuées simultanément dans des unités séparées alors que dans les RBS, ces processus sont exécutés de façon séquentielle dans le même bassin, au cours d'un cycle d'opération.

Plusieurs RBS ont le même mode opératoire de base (Figure 2.1) caractérisé par une période de remplissage, une période de réaction au cours de laquelle des phases aérobies, anoxies et anaérobies peuvent être retrouvées, une période de purge de liqueur mixte permettant de contrôler le temps de résidence cellulaire (TRC), une période de sédimentation, une période de purge de surnageant et de façon facultative, une période de repos. La période de remplissage peut être statique, mélangée ou aérée dépendant des objectifs de traitement (Ketchum, 1997). La purge de liqueur mixte permet également d'éliminer une partie du phosphore accumulé par la biomasse déphosphatante au cours du procédé de déphosphatation biologique. La durée et les volumes impliqués dans chacune de ces périodes sont déterminés par les contraintes opératoires (cinétiques et hydrauliques) et les performances désirées.

Par ailleurs, un des principaux avantages des réacteurs biologiques séquentiels est que ce sont des systèmes opérés en régime transitoire (procédés en cuvée ou cuvée alimentée), ce qui permet de suivre le profil dynamique d'une variété de composés au cours d'un traitement et facilite l'étude et la compréhension des processus impliqués dans les procédés (Carucci *et al.*, 1994; Ketchum, 1997).

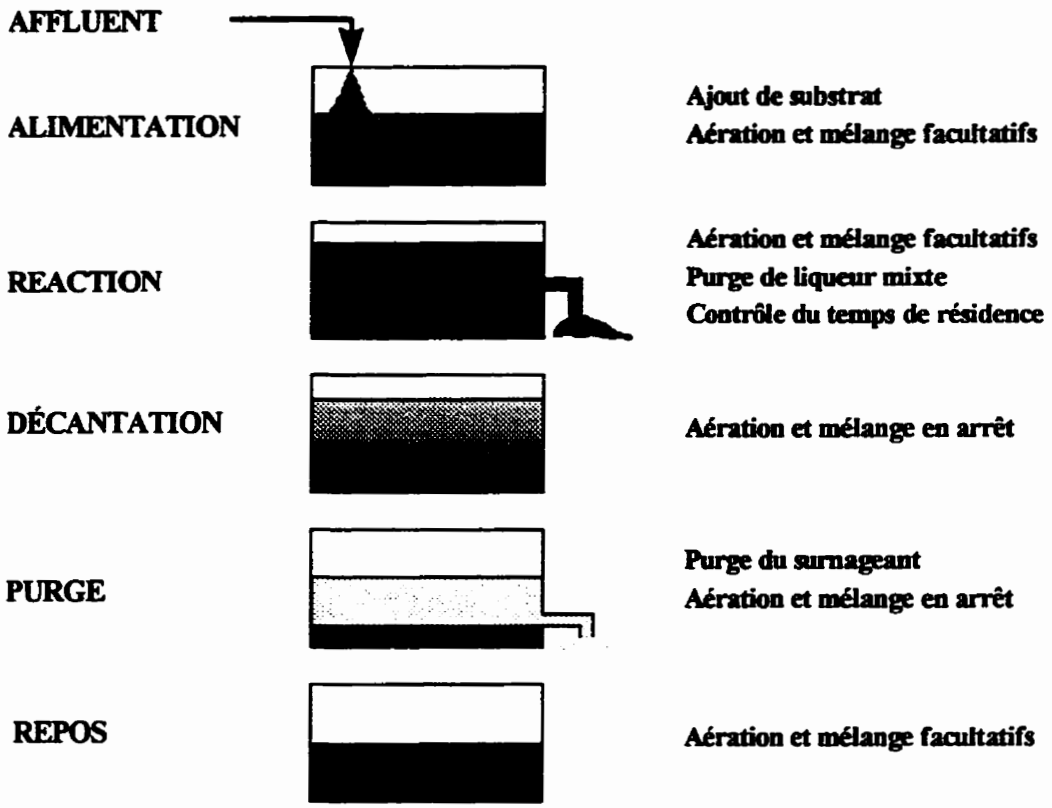


Figure 2.1 Principe de fonctionnement et cyclologie opératoire d'un réacteur biologique séquentiel.

2.2 La déphosphatation biologique

La déphosphatation biologique est un mode de traitement des eaux usées qui consiste à enrichir une biomasse en phosphate. Il est ainsi possible d'augmenter le contenu en phosphore, par unité de poids sec, d'une boue activée jusqu'à 10% alors qu'elle en contient normalement de 1,5 à 2% (Comeau, 1990).

Marais *et al.* (1983), Arvin (1985), Wentzel *et al.* (1992) et Johansson (1994) présentent une revue historique de l'évolution des connaissances concernant le phénomène de la déphosphatation biologique. Ces découvertes ont mené aux principaux modèles que l'on connaît aujourd'hui (Comeau *et al.*, 1986; Wentzel *et al.*, 1986; Mino *et al.*, 1987; Gujer *et al.* (modèle No. 2 de l'IAWQ), 1995; Smolders *et al.*, 1995). Bien que des différences existent entre ces modèles, deux constats leurs sont communs :

- La stimulation de l'enlèvement biologique du phosphore nécessite une alternance de périodes anaérobie et aérobie (ou anoxie);
- Les acides gras volatils (AGV) à courte chaîne que sont l'acétate et le propionate jouent un rôle central durant la phase anaérobie et sont nécessaires à la stimulation du relargage de phosphore.

2.2.1 Mécanismes de la déphosphatation biologique

Comeau *et al.* (1986) ont proposé, à partir des travaux de Marais *et al.* (1983), un modèle biochimique conceptuel (phénoménologique et qualitatif) des processus impliqués au cours des phases anaérobie et aérobie inhérentes à la déphosphatation biologique.

En conditions anaérobies, l'acétate est transporté à travers la membrane cellulaire, puis emmagasiné sous forme de poly-β-hydroxyalcanoates (PHA) grâce à l'énergie fournie par la dégradation de réserves de polyphosphates. Comme il n'y a pas de croissance en conditions anaérobies chez les bactéries déphosphatantes, le bris des chaînes de polyphosphates résulte en une accumulation intracellulaire de phosphore. Un relargage de phosphore survient lorsque les quantités de phosphates libérés dépassent la capacité de rétention de la cellule. Par ailleurs, le relargage de phosphore est

accompagné d'un co-transport de cations métalliques (potassium, magnésium, calcium) hors de la cellule (Gerber *et al.*, 1987b; Comeau *et al.* 1987b). La présence et le rôle de ces cations, en particulier le potassium et le magnésium, seraient d'une très grande importance dans la bonne marche et l'équilibre ionique du procédé de déphosphatation biologique (Rickard et McClintock, 1992).

Quand les bactéries déphosphatantes entrent en conditions aérobies, elles ont accumulé des réserves de PHA et contiennent une quantité réduite de polyphosphates. Les PHA produits sont alors utilisés pour la croissance et leur métabolisation contribue au transport d'ions phosphates (et par le fait même au co-transport de cations métalliques) et à la production de molécules d'ATP. L'ATP produit sert alors pour le stockage de phosphate sous forme de polyphosphates. En favorisant le captage des AGV par les bactéries déphosphatantes et la synthèse de PHA intracellulaire en phase anaérobie, leur croissance est avantagée en phase aérobie puisqu'elles sont les seules bénéficiaires de ces PHA.

Cette description des processus inhérents à la déphosphatation biologique est largement acceptée par le milieu scientifique. Toutefois, un sujet important de discussion concerne la provenance du NADH nécessaire à la production de PHA. Alors que Comeau *et al.* (1986) et Wentzel *et al.* (1986) suggèrent que le NADH provient du passage d'une partie de l'acétyl-CoA à l'intérieur du cycle de Krebs en période anaérobie, Mino *et al.* (1987) proposent un modèle biochimique basé sur des expérimentation révélant, sous conditions anaérobies, une réduction de carbohydrates emmagasinés de façon interne (glycogène). Ils concluent que le glycogène constitue un troisième composé polymérique d'emmagasinement (avec les PHA et les polyphosphates) et est impliqué dans la synthèse des PHA. D'autres travaux tendent à confirmer cette constatation (Arun *et al.*, 1989; Mino *et al.*, 1995a; Smolders *et al.*, 1995; Murnleitner *et al.*, 1996). Il est également proposé qu'une partie des PHA

produits en phase anaérobie servent, en période aérobie, non seulement à la croissance et à la production de polyphosphates, mais également à la production de glycogène (Mino *et al.*, 1995a; Smolders *et al.*, 1995).

Sous conditions anoxies les bactéries déphosphatantes sont également capables d'accumuler du phosphore, alors que l'oxygène dissous en tant qu'accepteur d'électron est remplacé par les nitrates. En présence d'AGV et en conditions anoxie, Comeau *et al.* (1986) distinguent deux types de bactéries déphosphatantes : les déphosphatantes dénitrifiantes qui accumulent le phosphore en solution et synthétisent des polyphosphates comme en présence d'oxygène et les déphosphatantes non-dénitrifiantes qui relarguent le phosphore comme en phase anaérobie. L'effet net du relargage et de l'accumulation des phosphates en conditions anoxies dépend essentiellement de l'importance et de l'activité relative des deux groupes de bactéries déphosphatantes. Gerber *et al.* (1987a) observent pour leur part qu'en période aérobie ou anoxie, la présence d'AGV induit un relargage de phosphore. Cependant, une accumulation simultanée du phosphore survient également, ce qui a pour conséquence de réduire le niveau de phosphore relargué par rapport à des conditions strictement anaérobies.

Mino *et al.* (1995a), dans un complément au modèle No. 2 de l'IAWQ (Gujer *et al.*, 1995), proposent que toutes les bactéries déphosphatantes sont également dénitrifiantes alors que Murnleitner *et al.* (1996) suggèrent que le pouvoir dénitrifiant dépend de l'intensité de l'exposition à des conditions anoxies.

Par ailleurs, Smolders *et al.* (1994c) démontrent l'importance du pH au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique. En effet, ils observent que le taux de relargage du phosphore augmente avec un pH croissant. Le transport de l'acétate à faible pH requiert moins d'énergie, ce qui résulte en une sollicitation moins

importantes des chaînes de polyphosphate. Un pH de 6,8 est proposée par Liu *et al.*, (1996) pour le métabolisme anaérobie parce qu'à ce pH un taux relativement élevé de captage d'acétate accompagné d'une consommation moindre d'énergie peut être maintenu par les bactéries déphosphatantes.

Différentes sources de carbone ont été éprouvées pour stimuler le procédé de déphosphatation biologique. Outre l'acétate, d'autres acides gras volatils à courtes chaînes (propionate, butyrate,valérate, formate, lactate) peuvent stimuler le relargage de phosphore et la synthèse de PHA en conditions anaérobies (Comeau et al., 1987a, Gerber *et al.*, 1987b). L'acétate et le propionate s'avèrent être, en général, plus performant que les autres AGV utilisés pour l'enlèvement du phosphore. Toutefois, le propionate induit préférentiellement la synthèse de poly-β-hydroxyvalérate (PHV) (Comeau *et al.*, 1987a). L'éthanol, le méthanol, le butendiol et le glucose échouent généralement dans l'induction du relargage de phosphore à moins que des conditions strictement anaérobies soient présentes (Gerber *et al.*, 1987b). Dans ces conditions, ces éléments sont transformés en produits de fermentation (en acétate et en propionate par exemple) plus propices à la stimulation du relargage de phosphore.

Par ailleurs, il semble que le glucose favorise la croissance d'un autre type de bactéries, les bactéries " G " (ou GAO: glycogen accumulating organism), capables de capter le carbone en période anaérobie, sans faire intervenir l'énergie des chaînes de polyphosphates (Cech et Hartman, 1990; Matsuo *et al.*, 1992; Satoh *et al.*, 1992;, Cech et Hartman, 1993; Satoh *et al.*, 1994; Mino *et al.*, 1995a). La présence de ces bactéries contribuerait à la détérioration des performances d'enlèvement du phosphore. Outre la présence de glucose dans l'alimentation, les facteurs pouvant influencer la prolifération de ces bactéries au détriment des bactéries déphosphatantes seraient un faible rapport phosphore/carbone (Liu *et al.*, 1997), la présence d'organismes

prédateurs (Cech *et al.*, 1994) et un temps de résidence cellulaire trop court en conditions anaérobies (Matsuo, 1994).

2.2.2 Modélisation du procédé de déphosphatation biologique

Outre le modèle de Comeau *et al.* (1986) décrit précédemment, différents modèles ont été élaborés pour représenter et étudier la dynamique du procédé de déphosphatation biologique. Chacun décrit relativement bien l'ensemble des processus impliqués dans le métabolisme des bactéries déphosphatantes et, dans certains cas, tiennent également compte du métabolisme d'autres types de bactérie, comme les hétérotrophes non-déphosphatantes, les autotrophes et tout récemment les bactéries G. Ces bactéries se retrouvent fréquemment dans les boues du procédé de déphosphatation biologique et compétitionnent avec les bactéries déphosphatantes.

Wentzel *et al.* (1986) décrivent de façon dynamique (bilans de matière) et quantitatives les différentes voies métaboliques impliquées et les mécanismes de contrôle gouvernant les réactions biochimiques sous différentes conditions d'opération. Leur modèle est basé sur les constatations et les hypothèses de Comeau *et al.* (1986).

Il indique entre autre que les mécanismes associés à la production et à la dégradation du PHA et des polyphosphates sont régis par les rapport NADH/NAD et ATP/ADP. Ainsi, lorsque les rapports NADH/NAD ou ATP/ADP sont très élevés, le cycle de Krebs est inhibé. Par contre, un rapport NADH/NAD stimule la production de PHA alors qu'un rapport ATP/ADP élevé stimule la production de polyphosphates. C'est ainsi que, sous conditions aérobies et en présence d'une forte concentration d'acétate, le modèle de Wentzel *et al.* (1986) prédit la synthèse de PHA et de polyphosphates simultanément. Les expérimentations ayant permis d'observer ce phénomène ont été effectuées sur une culture enrichie constituée à 90% d'*Acinetobacter* spp..

Mino *et al.* (1987) proposent un modèle impliquant le glycogène dans la synthèse de PHA. Le NADH requis pour la synthèse des PHA ne proviendrait donc pas du cycle de Krebs comme le suggèrent Comeau *et al.* (1986) mais de la consommation de glycogène par l'intermédiaire de la voie métabolique Embden Meyerhof (EMP).

Une combinaison du modèle général No. 1 de l'International Association on Water Quality l'IAWQ (IAWQ: groupe d'étude formé pour promouvoir le développement de modèles dits " State of the art " pour la conception et l'opération de systèmes d'épuration biologique) (Henze *et al.*, 1987), qui décrit le comportement des organismes hétérotrophes non-déphosphatants et des organismes autotrophes, et du modèle de Wentzel *et al.* (1986) qui décrit le comportement des organismes déphosphatants est élaborée par Dold (1991). C'est un modèle cinétique général des boues activées où sont incorporées les étapes d'oxydation du carbone, de la nitrification, de la dénitrification et de la déphosphatation biologique. Dans ce modèle, trois ajouts sont faits par rapport au modèle No. 1 de l'IAWQ:

- l'approvisionnement d'azote (azote ammoniacal et nitrate) pour la synthèse cellulaire;
- la transformation de la matière organique (DCO) facilement biodégradable en acides gras volatils (AGV);
- la croissance des organismes hétérotrophes non-déphosphatants utilisant les AGV comme substrat en période anoxie.

Ce modèle a par la suite subit quelques raffinements suite à une série de travaux et a été présenté à nouveau récemment (Barker et Dold, 1997). La considération de taux d'hydrolyse de la DCO lentement biodégradable similaires au cours des périodes anaérobie, aérobie et anoxie compte parmi les modifications apportées.

Un modèle dynamique construit à partir de bilans énergétiques et tenant compte de la dynamique du glycogène est proposé par Smolders *et al.* (1994a; 1994b; 1995). À partir de leur travaux sur la contribution du glycogène dans les processus inhérents à la déphosphatation biologique, ils concluent que l'hypothèse de Mino *et al.* (1987) répond mieux à leurs résultats que celle de Wentzel *et al.* (1986). Ils montrent que la quantité de PHB produite ne peut provenir de la seule transformation de l'acétate alimenté.

Ce modèle est d'expression simple et semble bien décrire la dynamique de la déphosphatation biologique dans le cas d'une alimentation reconstituée et d'une culture enrichie en biomasse déphosphatante Il comporte donc quelques simplifications par rapport aux caractéristiques de biotraitement d'effluents réels. Entre autres, il ne tient pas compte des réactions de nitrification et de dénitrification. Un temps de résidence cellulaire de 8 jours au cours des expérimentations qui ont menées au développement du modèle et la présence de la période anaérobie auraient défavorisé la croissance de bactéries nitrifiantes. Le substrat carboné présent dans l'alimentation est constitué en totalité d'acétate ce qui permet de ne considérer qu'une seule source de carbone qui en plus est directement assimilable (pas de réactions de fermentation). Il est basé sur l'hypothèse que le substrat carboné est totalement consommé durant la période anaérobie ce qui permet d'obtenir une biomasse enrichie en organismes déphosphatants (à 90 % présents dans la culture mixte); il ne considère alors qu'un seul type d'organisme dans son modèle. De plus, comme il n'y a pas de nitrates dans le milieu réactionnel, il n'est pas nécessaire de faire la distinction entre la biomasse déphosphatante dénitrifiante et non-dénitrifiante.

Un modèle possédant la même structure que le modèle de Smolders *et al.* (1995) a par la suite été développé afin de représenter la dynamique d'accumulation du phosphore en conditions anoxies (Murnleitner *et al.*, 1996). Le procédé est décrit par les mêmes

réactions biochimiques qu'en conditions aérobies sauf pour l'accepteur d'électron. Bien que la stoechiométrie des deux modèles soit la même, des paramètres cinétiques différents ont été trouvés.

Le modèle des boues activées No.2 proposé par l'IAWQ a été publié par Gujer *et al.* (1995). C'est un modèle biologique général où sont incorporées les étapes d'oxydation du carbone, de la nitrification, de la dénitrification par les bactéries hétérotrophes exclusivement, de la déphosphatation biologique et qui inclut les phénomènes de précipitation et de solubilisation du phosphore. Mino *et al.* (1995a) suggèrent entre autre complément à ce modèle, l'intervention du glycogène dans le métabolisme des bactéries déphosphatantes, la production de polyphosphates en conditions anoxies et ajoute la présence des bactéries G.

Les modèles décrits précédemment sont les plus utilisés à l'heure actuelle bien que d'autres adaptations existent (ex : Ante *et al.*, 1994; Johansson, 1994).

2.3 La respirométrie

La respirométrie est la mesure et l'interprétation des changements de concentration en oxygène dissous observés dans les systèmes à boues activées (ex. : Ros, 1993). Ces changements sont représentatifs de l'activité microbienne (respiration endogène, assimilation du substrat, nitrification, croissance , etc).

Un test de respirométrie consiste en général à placer un échantillon de liqueur mixte provenant du système étudié en présence d'oxygène dissous et de suivre l'évolution de la concentration en oxygène dissous. Le bilan de masse associé à la dynamique du respiromètre est fonction de la quantité d'oxygène fournie au système et de la quantité d'oxygène consommée par les microorganismes. Cette dernière est fonction des taux

endogène (TUO_{END}) et exogène (TUO_{EXO}) d'utilisation de l'oxygène de ces microorganismes (ex.:Vanrolleghem, 1994), la respiration exogène étant induite par la présence de substrat dans le milieu réactionnel. La dynamique de la concentration en oxygène dissous peut alors s'exprimer de la façon suivante :

$$dC/dt = K_La\,(C_S - C) - TUO_{END} - TUO_{EXO} \qquad (2.1)$$

où

K_La	=	Coefficient de transfert d'oxygène dissous;
C	=	Concentration en oxygène dissous ;
C_S	=	Concentration de saturation en oxygène dissous;
TUO_{END}	=	Taux d'utilisation de l'oxygène endogène;
TUO_{EXO}	=	Taux d'utilisation de l'oxygène exogène.

Dans le cas de la déphosphatation biologique, le taux de respiration exogène en période aérobie pour une culture enrichie en biomasse déphosphatante est plus particulièrement fonction de la consommation des PHA qui servent pour la croissance, la synthèse de polyphosphates et la production de glycogène (Smolders *et al.*, 1995). Pour un rapport acétate/phosphore supérieur à 25.8 mg DCO/mg P, suffisamment de PHA sont produits pour accumuler complètement le phosphore en solution. Smolders *et al.* (1995) expliquent que la production de polyphosphates requiert beaucoup d'énergie provenant de l'utilisation de l'oxygène alors que les PHA sont peu sollicités. Lorsque le phosphore est complètement accumulé en période aérobie, une chute du taux de consommation en oxygène dissous survient bien que peu de changements soient observables dans la dynamique de consommation des PHA au même moment.

En conditions aérobies et en limitation de phosphore, le taux de consommation en oxygène dissous chute lorsque le phosphore n'est plus accumulé par les bactéries

déphosphatantes (Wentzel et al., 1987; 1989; 1992). L'hypothèse émise pour expliquer ce comportement est que les PHA ne sont plus disponibles pour la synthèse de polyphosphates.

Par ailleurs, l'ajout d'acétate au cours de la période aérobie élève le taux de consommation en oxygène dissous et ce dernier chute brutalement au moment de la disparition de l'acétate du milieu réactionnel (Wentzel *et al.*, 1987; 1989). La chute brutale du taux de consommation en oxygène dissous indiquerait que les bactéries déphosphatantes pourraient utiliser l'acétate pour la production de PHA, avec un relargage simultané de phosphore, et également directement pour la croissance.

Le taux de consommation en oxygène dissous est également affecté par la réaction de nitrification et par la consommation de substrat difficilement biodégradable par les bactéries autotrophes et hétérotrophes respectivement.

De nouveaux outils développés depuis quelques années et appelés " capteurs logiciels " résultent de la combinaison de capteurs robustes et d'un modèle mathématique (Bastin et Dochain, 1990), celui du procédé en général. Ces capteurs sont utilisés, entre autre, pour le calcul de variables et l'estimation de paramètres que les capteurs traditionnels ne permettent pas d'obtenir.

Le développement de tels capteurs, basés sur les techniques de respirométrie, a entre autre permis de mettre au point des outils servant à évaluer les besoins en oxygène dissous des microorganismes, certains paramètres cinétiques comme les coefficients de croissance, de mortalité et de respiration (Vanrolleghem, 1994), la demande biologique en oxygène facilement biodégradable (Spanjers *et al.*, 1993, Klapwijk *et al.*, 1993, Vanrolleghem, 1994) et la demande chimique en oxygène facilement biodégradable (Wentzel *et al.*, 1995) d'un affluent à traiter ainsi que sa toxicité (Kong *et al*, 1994;

Vanrolleghem, 1994). Certains travaux ont également permis de développer des stratégies d'aération dans le but de faire des économies d'énergies (Spanjers *et al.*, 1993, Brouwer et al., 1994) ou d'améliorer les performances de traitement (Demuynck *et al.*, 1994; Isaacs, 1997).

CHAPITRE III
MATÉRIELS ET MÉTHODES

Ce chapitre présente le matériel employé et la démarche expérimentale suivie au cours de ce projet. Le réacteur biologique utilisé est décrit à la section 3.1. Les informations sur le système de contrôle et d'acquisition de données qui permet d'opérer le réacteur de façon automatique et autonome sont données à la section 3.2. Dans la section 3.3, la composition de l'alimentation est détaillée. La cyclologie utilisée afin de favoriser les processus inhérents à la déphosphatation biologique est résumée à la section 3.4 et le montage utilisé pour faire les analyses respirométriques en phase anaérobie est brièvement décrit à la section 3.5. Enfin, la démarche expérimentale qui a permis de réaliser les objectifs de ce projet se trouve à la section 3.6

3.1 Montage expérimental

Le réacteur biologique (Figure 3.1) est un fermenteur CHEMAP (type f0020) de volume total de 20 litres et a été utilisé au cours de l'expérimentation avec un volume utile de 15 litres. Le temps de résidence cellulaire était fixé à 15 jours afin d'avoir une bonne diversité de la population microbienne et de favoriser une bonne décantation de la boue. Le temps de résidence hydraulique était de 16 heures puisque la moitié du volume du réacteur était renouvelée à chaque cycle de 8 heures. Le mélange de la liqueur mixte était assuré par trois turbines Rushton à six pales fixées à un arbre central vertical et par quatre chicanes latérales. La vitesse d'agitation était fixée à 100 rpm ± 10. La température du réacteur était maintenue à 20°C ±1 en faisant passer de l'eau dans une chemise située à l'extérieur du réacteur. La température de l'eau de refroidissement (19°C) était contrôlée à l'aide d'un bain thermostaté. Durant toute la

période expérimentale, le pH était maintenu à 7.0 ± 0.1 à l'aide d'une unité de contrôle du pH et ajusté par l'ajout de NaOH 1N et de HCl 1N. Le pH était mesuré à l'aide d'une électrode combinée (AccuPHast). Cette valeur de pH a été choisie à la suite de travaux portant sur l'optimisation de la déphosphatation biologique pour un effluent de fromagerie (Lamarre, 1996) qui ont révélé quelques problèmes dans les performances du procédé opéré à pH 6 et 8. L'injection d'air s'effectuait au travers d'un anneau perforé situé au fond du réacteur et était contrôlée à l'aide de deux vannes solénoïdes à actions contraires (normalement ouverte et normalement fermée, respectivement). Une sonde à oxygène dissous de marque INGOLD permettait de suivre la concentration en oxygène dissous dans le réacteur. Une sonde à potentiel d'oxydo-réduction (sonde combinée ORION) était également plongée dans la liqueur mixte et reliée au système d'acquisition de données. Quatre pompes péristaltiques à débit variable permettaient d'effectuer les opérations d'alimentation et de purge du procédé.

3.2 Logiciel de contrôle

L'opération du réacteur et de ses périphériques était automatisée grâce à un ordinateur muni d'un logiciel de contrôle et d'acquisition de données écrit en langage Turbo Pascal. Ainsi, la mise en marche et l'arrêt des pompes et des agitateurs, de même que l'ouverture et la fermeture des vannes solénoïdes pour le contrôle de la concentration en oxygène dissous, pouvaient être préprogrammées selon une cyclologie pré-établie. Seul le contrôle du pH était assuré par une unité indépendante du logiciel de contrôle et d'acquisition de données. Le contrôle manuel des différents appareils à partir du clavier de l'ordinateur et des appareils eux-mêmes était également possible.

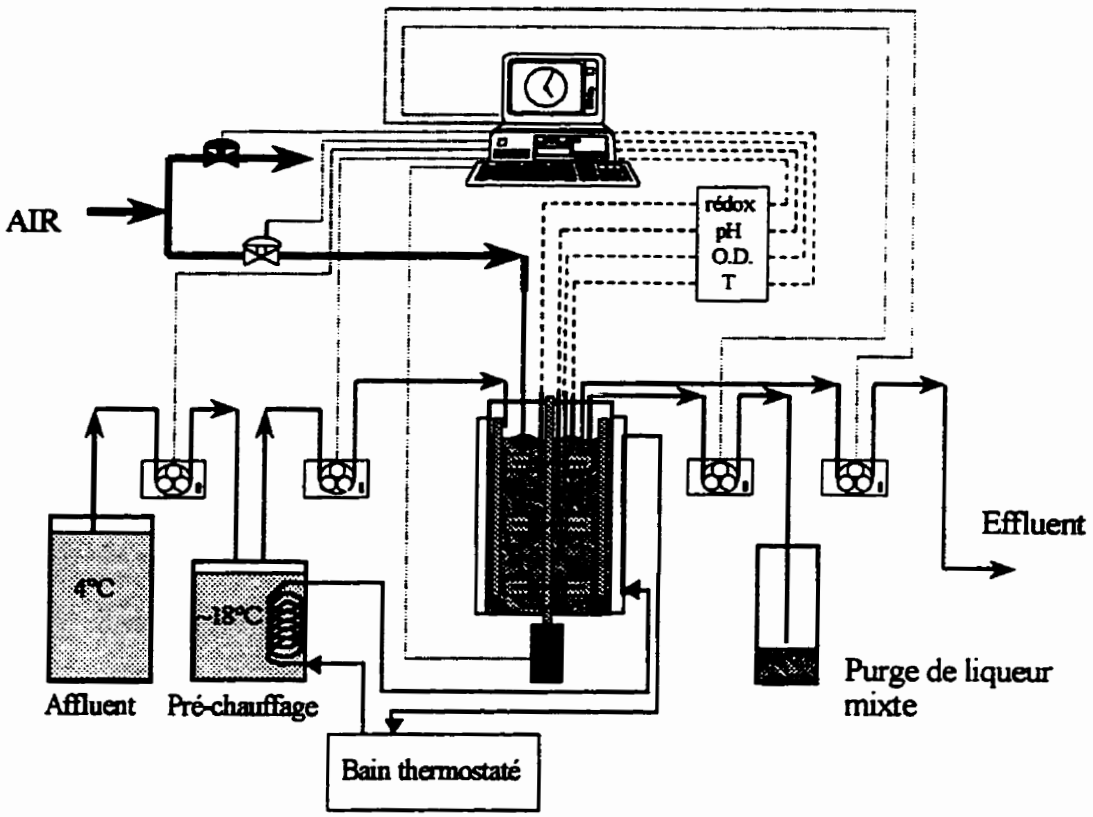


Figure 3.1 Schéma du montage expérimental

Les valeurs des différents paramètres mesurés (pH, oxygène dissous, température, potentiel d'oxydo-réduction) étaient enregistrées à intervalles réguliers (aux 10 minutes lors de l'opération régulière du réacteur, aux 10 secondes lors du suivi et de l'échantillonnage de cycles complets) sous forme de données avec des unités standards (%, °C, mV) dans un fichier accessible par la suite pour le traitement et l'analyse des données. Le système pouvait fonctionner de façon continue et autonome sur une longue période de temps. En cas de panne de courant, une batterie de secours alimentait le système en électricité pendant environ 45 minutes.

Le montage expérimental et le système de contrôle avaient déjà été utilisés dans le cadre de projets de maîtrise (Dumas, 1990; Roberge, 1991; Larose, 1992; Lamarre, 1996) et avaient démontré leur fiabilité pour des périodes allant jusqu'à deux ans d'opération continue.

3.3 Composition de l'alimentation

La composition de l'alimentation (tableau 3.1) utilisée au cours de la période expérimentale était basée sur les travaux de Smolders *et al.* (1994a, 1994b), à l'exception de la concentration en DCO qui a été fixée à 300 mg/l et 500 mg/l selon la période expérimentale en cours et de la concentration en phosphore qui est demeurée à 20 mg P/l pendant toute la durée des travaux.

Tableau 3.1 Composition de l'alimentation durant la période expérimentale

ALIMENTATION		SOLUTION DE NUTRIMENTS	
500	mg DCO/l (0,641 g CH_3COONa/l) ou	1,5	g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$/l
300	mg DCO /l (0,385 g CH_3COONa/l)	0,15	g H_3BO_3/l
28	mg N/l (0,107 g NH_4Cl/l)	0,03	g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$/l
20	mg P/l (0,088 g KH_2PO_4/l)	0,18	g KI/l
0,09	g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$/l	0,12	g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$/l
0,036	g KCl/l	0,06	g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$/l
0,014	g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$/l	0,12	g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$/l
0,001	g extrait de levure/l	0,15	g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$/l
0,30	ml solution de nutriments/l	10,0	g EDTA/l

Une fois par semaine, 180 litres d'alimentation étaient préparés et conservés à 4°C dans deux réservoirs de 100 litres chacun. L'analyse régulière des concentrations en DCO filtrée, en ortho-phosphates, en azote ammoniacal et en nitrate était effectuée de façon à s'assurer de l'intégrité de la qualité de l'alimentation durant la semaine de conservation.

3.4 Cyclologie et opération du réacteur

La cyclologie utilisée, d'une durée totale de 8 heures, était constituée de:

- **une période d'alimentation rapide** de 3 minutes au cours de laquelle le système d'agitation du réacteur n'est pas en marche. De cette manière, l'aération de surface qui pourrait survenir à cause de l'agitation au cours du remplissage est réduite. De plus, le principe du sélecteur est ainsi appliqué. En effet, en ne démarrant l'agitation qu'après le remplissage du réacteur, les bactéries dites " agglutinantes " sont mises en contact avec la quasi-totalité du substrat disponible au détriment des bactéries filamenteuses qui les compétitionnent bien qu'un léger brassage puisse survenir lors du remplissage . L'affluent, conservé à 4 °C, est préalablement chauffé (environ 18 °C) avant de l'introduire dans le réacteur afin de réduire la possibilité de choc thermique chez les bactéries. Le volume de solution d'alimentation introduite au réacteur est de 7,5 litres, ce qui correspond à la moitié du volume utile au cours d'un cycle de traitement.

- **une période non-aérée** de 2,95 heures débutant avec l'agitation de la liqueur mixte dès la fin de la période de remplissage. Après les 2 premières minutes d'agitation (temps jugé suffisant pour obtenir un bon mélange de la liqueur mixte fraîchement alimentée en substrat) le système de contrôle du pH est mis en fonction et demeure

en opération jusqu'à la fin de la seconde période non-aérée. Au cours de cette période, le captage de l'acétate et le relargage du phosphore par les bactéries déphosphatantes sont réalisés. La durée de cette période doit permettre de caractériser les états du système avant et après le captage complet de l'acétate lors du développement de la méthode respirométrique pour le suivi et le contrôle de la période anaérobie (chapitre 4).

- **une période aérée** de 3,5 heures, au cours de laquelle la concentration en oxygène dissous est maintenue entre 60% et 80% de la saturation à l'aide d'un système de contrôle de type ON-OFF (à 20°C, la concentration de saturation est évaluée à 9,3 mg O_2/l). Au cours de cette période, le phosphore est accumulé par les bactéries déphosphatantes. La durée de cette période devait permettre de caractériser les états du système avant et après l'arrêt de l'accumulation du phosphore lors du développement de la méthode respirométrique pour le suivi et le contrôle de la période aérobie (chapitre 5).

- **une deuxième phase non-aérée** de 0,5 heures ayant pour but de réduire la concentration en oxygène dissous et si possible, la concentration en nitrate avant de débuter la période de sédimentation. De cette façon, au début du cycle suivant, la consommation de l'acétate pour des réactions autres que la production de PHA (la dénitrification par exemple) est diminuée. Il faut toutefois éviter d'atteindre des conditions anaérobies qui pourraient résulter en une augmentation de la concentration en phosphore en solution. A la fin de cette période, un certain volume de liqueur mixte est purgé pour le contrôle de l'âge des boues et la vidange d'une partie du phosphore capté. Le volume à purger est évalué en fonction de la concentration en biomasse dans le réacteur et le surnageant, et du temps de résidence cellulaire (15 jours).

- **une période de sédimentation** de 1 heure au cours de laquelle la boue biologique sédimente au fond du réacteur.

- **une vidange du surnageant** effectuée au cours des 20 dernières minutes de la période de sédimentation. Le volume de surnageant purgé est égal au volume d'alimentation moins le volume de liqueur mixte purgé.

3.5 Respiromètres

Au cours de la période expérimentale, deux systèmes de respirométrie ont été utilisés et ont permis de caractériser la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous d'une biomasse retirée au cours de la première période non-aéree.

Le premier respiromètre était constitué d'un réacteur de volume utile de 3 litres. L'agitation et le mélange étaient assurés par une turbine Rushton et deux chicanes latérales. Une sonde à oxygène dissous, reliée à un système de contrôle et d'acquisition de données permettait de suivre la dynamique de l'oxygène dissous au cours des essais de respirométrie. La concentration en oxygène dissous était maintenue entre 40 et 80 % de la saturation à l'aide d'un contrôle de type ON-OFF. Ce respiromètre a servi pour la caractérisation de la dynamique réactionnelle pour des conditions aérobies en présence d'une source de carbone rapidement biodégradable (acétate).

Le deuxième respiromètre était constitué d'un bécher de 100 ml. L'agitation était assuré grâce à un barreau magnétique et une plaque agitatrice. Une sonde à oxygène dissous, également reliée à un système de contrôle et d'acquisitions de donnée, permettait de contrôler la concentration en oxygène dissous entre deux points de consigne (variants entre 40% et 80 % de la saturation) à l'aide d'un système de contrôle de type ON-OFF.

L'étude de la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous au cours de la période aérobie a été réalisée directement dans le RBS.

3.6 Méthodes analytiques

La DCO soluble, les orthophosphates, l'azote ammoniacal, les matières en suspension et les matières volatiles en suspension ont été analysés conformément à Standard Methods (1995). Le pourcentage de polyphosphates a été déterminé selon la méthode proposée par Comeau *et al.* (1991). L'analyse des PHA a été adaptée à partir de la méthode proposée par Renner et Braunegg, (1996). La méthode d'analyse du glycogène est celle proposée par la compagnie Agropur. Les détails des méthodes d'extraction et d'analyse des PHA et du clycogène sont présentés à l'annexe 1.

3.7 Démarche expérimentale

La démarche expérimentale suivie au cours de ce projet devait permettre de caractériser la dynamique réactionnelle du procédé de déphosphatation biologique et la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous, au cours des phases anaérobies et aérobies, pour différents événements pouvant survenir au cours d'un cycle de traitement.

3.7.1 Conditions d'opération

Deux conditions d'opération ont été étudiées : la limitation en phosphore et la limitation en carbone. Ces deux conditions se différentiaient par leur concentration en DCO à l'alimentation. Ainsi, les concentrations utilisées étaient de 300 mg DCO/l et 500 mg DCO/l. Pour ce qui est des concentration en phosphore et en azote

ammoniacal, elles ont été maintenues à 20 mg P/l et 28 mg N/l, respectivement, durant toute la période expérimentale. Ces deux concentrations en DCO devaient permettre d'étudier le système dans des conditions adéquates ou non d'enlèvement du phosphore. Le rapport carbone/phosphore minimum proposé par Smolders *et al.* (1995) (25,8 mg DCO (sous forme d'acétate)/mg P) pour obtenir de bonnes performances d'enlèvement du phosphore a servi à fixer les concentrations à l'alimentation.

Ainsi, à 500 mg DCO/l (25 mg DCO/mg P), il y a suffisamment de carbone rapidement biodégradable (acétate) pour que la synthèse des PHA qui en résulte permette d'enlever tout le phosphore en solution durant la phase aérobie. Cette condition était à la limite du rapport minimum proposé par Smolders et al. (1995) (avec une différence de 16 mg DCO/l) mais a permis de réaliser l'accumulation complète du phosphore au cours de la période aérobie. À 300 mg DCO/l (15 mg DCO/mg P) la production de PHA n'est pas suffisante. Ainsi, lorsque les PHA sont complètement consommés, l'accumulation du phosphore cesse et il reste en solution à cette concentration finale jusqu'à la fin du cycle, excepté une petite fraction qui peut être utilisée pour la croissance sur une source externe de carbone. Par ailleurs, un autre événement a été étudié, celui où il y a une fuite de carbone dans la phase aérée. Cette condition devait permettre de caractériser, entre autre, la dynamique de l'oxygène dissous, du phosphore et des PHA en présence d'acétate, sous conditions aérées.

3.7.2 Mise en route du réacteur

Le réacteur a tout d'abord été opéré sur une période d'un mois (2 fois le temps de résidence cellulaire) sans faire d'expérimentation majeure, afin de laisser au système le temps de développer une biomasse déphosphatante. L'innoculum ayant servi au

démarrage du réacteur provenait de la chaîne de retour des boues de la station d'épuration biologique de la municipalité de Granby (Québec, Canada). Cette biomasse avait prouvé son potentiel pour le développement d'une population de bactéries déphosphatantes, à l'intérieur d'une période de 2 à 3 semaines, au cours de travaux antérieurs (Lamarre, 1996). La concentration en DCO à l'alimentation imposée lors de cette période d'acclimatation était de 500 mg/l.

Une fois que les processus inhérents à la déphosphatation biologique ont été observés (relargage du phosphore durant la période anaérobie et accumulation durant la période aérobie), que les performances du procédé ont été jugées adéquates (concentration en phosphore soluble inférieure à 1 mg P/l dans le surnageant) et qu'un régime stationnaire a été atteint, la caractérisation de la dynamique du procédé a débuté. Cette caractérisation consistait en un échantillonnage à intervalle régulier durant un cycle complet de traitement. La mesure de la DCO soluble, des ortho-phosphates, de l'azote ammoniacal et des nitrates a été effectuée systématiquement sur chaque échantillon recueilli. Les PHA et le glycogène ont été mesurés sur une sélection d'échantillons, permettant ainsi d'avoir une idée juste de leur dynamique tout en limitant le nombre d'analyses. Cependant, seuls quelques cycles ont été caractérisés pour la dynamique du glycogène. L'acquisition de données sur la concentration en oxygène dissous, le pH, le potentiel d'oxydo-réduction et la température se faisait de façon automatique à un intervalle de 10 secondes au cours de ces suivis. La caractérisation du procédé a permis l'étude de la dynamique de certains composés durant un cycle de traitement, mais surtout de suivre la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous durant la période aérobie de ces cycles.

Cette caractérisation a été effectuée pour les conditions à 300 mg DCO/l et à 500 mg DCO/l. De façon régulière, des échantillons d'alimentation et de surnageant ont été recueillis et analysés pour la DCO filtrée, les ortho-phosphates, l'azote ammoniacal et

les nitrates. Les concentrations en matière en suspension (MES) et en matières volatiles en suspension (MVES) ont également été suivies tout le long de la période expérimentale. Des tests de quantification de polyphosphates relargués (Comeau et al, 1991) ont permis de suivre l'évolution du pouvoir déphosphatant du milieu biologique.

Les tests respirométriques ayant servis au développement de la méthode de suivi de la période anaérobie ont été répartis sur toute la durée de la période expérimentale. De cette façon, la validité de la méthode a pu être vérifiée en fonction de l'évolution du procédé.

Les détails expérimentaux et les résultats de ces travaux sont présentés aux chapitre 4, 5 et 6 sous forme d'articles.

CHAPITRE IV
RESPIROMETRIC CONTROL OF THE ANAEROBIC PERIOD DURATION OF AN SBR BIO-P PROCESS

Ce chapitre décrit le développement d'une méthode respirométrique pour le suivi de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique. La méthode est basée sur les observations faites par Wentzel *et al.* (1989) qui montrent qu'une chute du taux de consommation en oxygène dissous est associée à la fin du captage du carbone rapidement biodégradable en conditions aérobie. L'originalité de la méthode réside dans l'utilisation de données respirométriques pour suivre l'état de processus effectués en conditions anaérobies.

Les résultats obtenus montrent qu'une chute du taux de consommation en oxygène dissous est associée à la disparition de l'acétate contenu dans un échantillon soumis à un test de respirométrie. La présence et l'absence d'acétate dans le RBS au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique peut donc être déterminée par une série de tests de respirométrie réalisée en parallèle avec l'opération du réacteur. Des résultats complémentaires ayant contribués au développement et à la validation de la méthode respirométriques sont présentés à l'annexe 2.

Le développement de cette technique constitue une première étape dans la réalisation et l'application d'une stratégie d'opération basée sur le contrôle de la durée des périodes de réaction du procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel (voir chapitre 6).

Cet article a été présenté au symposium WATERMATEX 97 de l'IAWQ à Québec en juin 1997 et est publié dans: *Water Science and Technology*, **36**(5), 293-300.

MANUSCRIT #1
RESPIROMETRIC CONTROL OF THE ANAEROBIC PERIOD DURATION OF AN SBR BIO-P PROCESS

Alain Larose*, Michel Perrier*, Yves Comeau**

** Department of Chemical Engineering, (mperrier@mail.polymtl.ca),*
*** Department of Civil, Geological and Mining Engineering,*
Ecole Polytechnique 2900 Edouard-Montpetit blvd., Montreal (Quebec), H3C 3A7 Canada

4.1 Abstract

A new strategy based on respirometry for the control of the anaerobic period duration of an SBR bio-P process with a rapid-fill mode of operation was developed. Samples were withdrawn every 15 minutes from a lab-scale SBR during the anaerobic period and aerated intermittently in order to determine the respiration rate. The time of disappearance of the rapidly biodegradable substrate (acetate) was determined by the fall observed in the respiration rate. It was shown that, respirometry can be used not only for the characterization and control of aerobic processes, but also for the control of the anaerobic period duration of an SBR bio-P process.

4.2 Keywords

Anaerobic period; biological phosphorus removal; process control; respirometry; sequencing batch reactor.

4.3 Introduction

Biological phosphorus (bio-P) removal is a process in which phosphorus is removed from wastewater by bacteria able to store polyphosphates intracellularly. An essential condition to enhance the growth of a bio-P population in an activated sludge process is that the biomass must be exposed to alternating anaerobic and aerobic or anoxic conditions. Polyphosphates are accumulated intracellularly during the aerobic period and are used as an energy source, along with glycogen, during the anaerobic period to take up and store volatile fatty acids (VFAs) into poly-β-hydroxyalcanoates (PHA).

Bio-P removal can be achieved in various types of biological reactors. Among them, the sequencing batch reactor (SBR) is a versatile system in which it is possible to achieve chemical oxygen demand (COD) removal, nitrification, denitrification and biological phosphorus removal. The operation of an SBR can be optimized by controlling the dissolved oxygen concentration, the cycle duration and the feed mode. A rapid and static-fill sequence ensures that rapidly biodegradable COD (rbCOD) is available to bio-P bacteria for intracellular storage under anaerobic conditions. VFA " leakage " from the anaerobic into the aerobic period should be avoided to preserve the bio-P removal potential of the biomass (Wentzel *et al.*, 1988).

The operation mode of an SBR process is usually ruled by a fixed cycle and reaction period durations. This can result in losses of time, energy and removal efficiency when the reactions are completed before the end of the different anaerobic and aerobic reaction phases. Alternatively, the reaction phases duration may be too short to allow complete reactions resulting, for example, in VFAs " leakage " into the aerobic period or incomplete soluble phosphate uptake at the end of the aerobic period. On-line control strategies are currently available (Thornberg *et al.*, 1993) and continue to be developed to adjust the reaction periods duration in accordance to variable influent composition and biomass activities.

The lack of reliability of on-line sensors is a major difficulty in the monitoring of activated sludge processes (Vanrolleghem, 1994). Techniques like flow injection analysis (FIA ; Isaacs et Temmink, 1996) and micro-continuous flow analysis (μCFA) (Lynggaard-Jensen *et al.*, 1996) provide phosphorus and nitrogen analyses within approximately 5 minutes but these techniques are labor intensive and expensive. In recent years, the development of respirometry has generated much interest in the monitoring and control of activated sludge systems. The availability of respirometric data allows the calculation of variables and parameters such as growth, death and respiration coefficients (Vanrolleghem, 1994), readily biodegradable BOD (Spanjers *et al.*, 1993) and readily biodegradable COD (Wentzel *et al.*, 1995). However, this technique has been used for the control of aerobic and, in general, continuous flow processes.

The objective of this research was to develop a respirometric method for the on-line control of the anaerobic period duration of a rapid-fill SBR bio-P process. Based on the observations made by Wentzel *et al.* (1989) on the behavior of a bio-P biomass following acetate addition under aerobic conditions, it was hypothesized that for such a process, the disappearance of rapidly biodegradable substrate under anaerobic conditions could be detected by a series of respirometric batch tests, performed in parallel with the process, to indicate when to initiate the aeration of the SBR.

4.4 Materials and methods

4.4.1 Feed

The feed composition is shown in Table 4.1 and was based on that of Smolders *et al.* (1994) except that the acetate and phosphorus concentrations were set at 500 mg COD/l or 300 mg COD/l, depending on the experimental period, and 20 mg P/l,

respectively. The feed ammonia nitrogen concentration allowed for a long enough nitrification and a nearly constant respiration rate so that this reaction did not interfere with the observation of changes arising in the global OUR profile.

Table 4.1 Feed composition used during the experimentation period

FEED		NUTRIENT SOLUTION	
500	mg COD/l (0.641 g CH_3COONa/l)	1.5	g $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$/l
28	mg N/l (0.107 g NH_4Cl/l)	0.15	g H_3BO_3/l
20	mg P/l (0.088 g KH_2PO_4/l)	0.03	g $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$/l
0.09	g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$/l	0.18	g KI/l
0.036	g KCl/l	0.12	g $MnCl_2 \cdot 4\ H_2O$/l
0.014	g $CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$/l	0.06	g $Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$/l
0.001	g yeast extract/l	0.12	g $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$/l
0.30	ml nutrient solution/l	0.15	g $CoCl_2 \cdot 6\ H_2O$/l
		10.0	g EDTA/l

4.4.2 SBR Bio-P process

The biological reactor was a 20 l CHEMAP fermentor (type f0020) with a 15 l working volume. Temperature was controlled at 20 ± 1°C and pH at 7.0 ± 0.1. During the aerobic phase, medium-bubble aeration was used and the dissolved oxygen (D.O.) concentration was maintained between 60% and 80% of saturation by turning air on and off (D.O. saturation concentration at 20 °C = 9.3 mg/l). D.O., pH, temperature and oxidation-reduction potential probes were submerged in the mixed liquor and linked to the data acquisition system. The sludge residence time (SRT) and hydraulic residence time (HRT) were maintained at 15 days and 16 hours, respectively. The rapid-fill SBR bio-P process performances during the experimental period are presented in Table 4.2.

Table 4.2 SBR bio-P process characteristics corresponding to the experimental periods.

Parameters	Units	08-07-1996 (Figure 4.1)	09-10-1996 (Figure 4.2)	27-11-1996 (Figure 4.3)
COD_{sol} in	mg/l	527	503	316
COD_{sol} out	mg/l	61	46	46
o-PO_4 in	mg P/l	23.5	20	19.2
o-PO_4 out	mg P/l	0.9	3.3	11.4
N-NH_4 in	mg N/l	28.0	24.2	na
NH_4 out	mg N/l	0.2	0.5	na
NO_3 in	mg N/l	0.6	0.3	na
NO_3 out	mg N/l	6.3	4.3	na
MLSS	mg/l	3013	2843	1939
MLVSS	mg/l	1884	1910	1511
poly-P (end of aerobic period)	G P/g MLVSS	15.0 %	na	5.4 %

Note : na : not available

4.4.3 Cycle description

The SBR cycle was composed of an anaerobic phase (3 h) of which the first 3 minutes were used for rapidly filling (without mixing) 50% of the working volume with influent, an aerobic phase (3.5 h) and an anoxic phase (0.5 h). Mixed liquor was wasted at the end of the anoxic phase for SRT control. The settling period lasted 1 hour and the supernatant was withdrawn during the last 20 minutes of this final period.

4.4.4 Respirometry

Two types of respirometry tests were performed. The first one, the *OUR characterization batch test*, allowed for the interpretation of the changes in the OUR dynamics that could be observed during the *SBR anaerobic period respirometric test*. This test consisted in aerating a sample withdrawn from the SBR 15 minutes after the beginning of the anaerobic period, resulting in the presence of acetate. Mixed liquor (3 l) was transferred into a lab-scale reactor equipped with an agitation system and a

Ingold D.O. probe. Aeration was provided by two aquarium diffusers and data were collected by a computer every 2 seconds. On-off control of aeration between 40% and 80% of saturation provided data for the calculation of the respiration rate during the " air-off " state. This respirometry tests lasted 2 hours. Sampling was made frequently in order to perform soluble COD and o-PO_4 analyses.

The second type of respirometry test, the *SBR anaerobic period respirometric test* was conducted with two respirometers (100 ml beakers) operated in parallel. In this case, 50 ml of samples were taken from the fermentor every 15 minutes and were aerated for 30 minutes. Agitation was provided by a magnetic stirrer and aeration by an aquarium diffuser. D.O. monitoring was performed using two identical D.O. probes and data collection was achieved with the same system as for the first type of respirometry test. This test was the method developed to detect the disappearance of the acetate in the SBR during the anaerobic period.

4.4.5 Analytical methods

COD, o-PO_4, NH_4, NO_3, MLSS and MLVSS were analyzed according to the Standard Methods (1995). The percentage of polyphosphates was determined according to the excess acetate addition method proposed by Comeau *et al.* (1991).

4.5 Results and discussion

4.5.1 OUR characterization batch test

The effect of aerating a bio-P sludge in the presence of acetate as the only carbon source on the profile of o-PO_4, soluble COD, D.O. and OUR is shown in Figure 4.1.

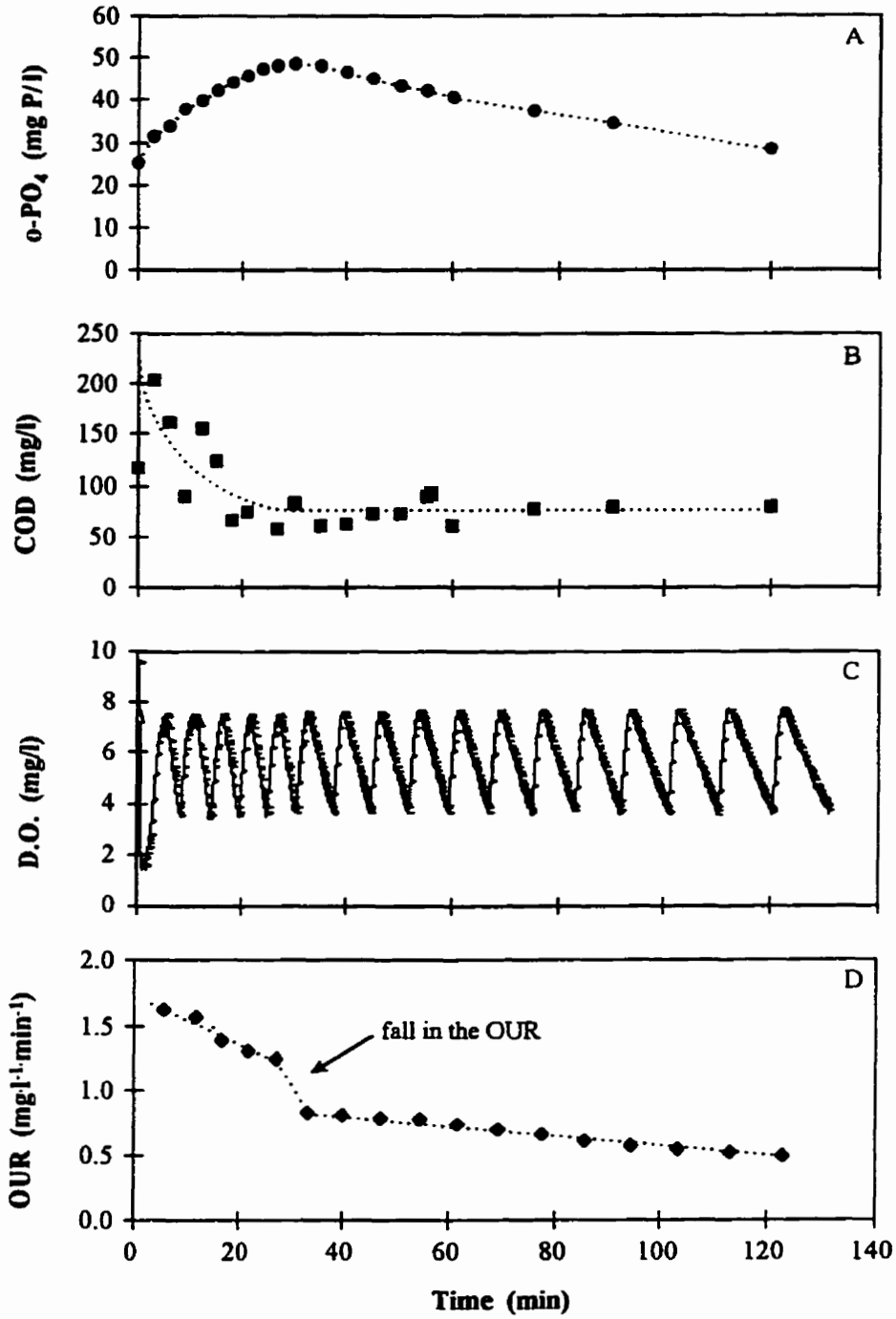


Figure 4.1 Effect of aerating a bio-P sludge fed with acetate as the only carbon source in the influent on the profile of A) o-PO_4, B) filtered COD, C) dissolved oxygen and D) oxygen uptake rate.

The o-PO_4 concentration increased in solution for the first 30 minutes at which point the o-PO_4 concentration started to decrease, being accumulated by the biomass (Figure 4.1A). This change in o-PO_4 profile also corresponded to the disappearance of acetate from solution, as indicated by the filtered COD profile (Figure 4.1B). It was also observed that the PHB dynamics followed that of o-PO_4 (results not shown)[1]. This observation about PHB was also previously made by Comeau (1989). The OUR (Figure 4.1D) was calculated from the profile of D.O. concentration varying between 80% and 40% of saturation (Figure 4.1C). At 30 minutes, the OUR sharply decreased as a result of organic matter limitation. PHAs were then used but as this component is more difficult to metabolized, the respiration rate was lower than for acetate consumption. This experiment demonstrated that the removal of rapidly biodegradable COD from solution could be detected by a sharp fall in OUR.

4.5.2 SBR anaerobic period respirometric test

This experiment was made in order to verify that respirometry could be used to detect the time of complete assimilation of VFAs for the control of the anaerobic period duration of a rapid-fill SBR bio-p process. The relationship between filtered COD and o-PO_4 in the SBR, and OUR in batch respirometry tests is shown in Figure 4.2. In this experiment, fresh mixed liquor samples were taken every 15 minutes from the SBR. Figures 4.2A, and 4.2B show the respiration rates dynamics of each samples. Figure 4.2C shows the o-PO_4 and filtered COD concentrations for the samples taken in the SBR. It also corresponds to the concentration of the samples at the beginning of each respirometry test initiated every 15 minutes.

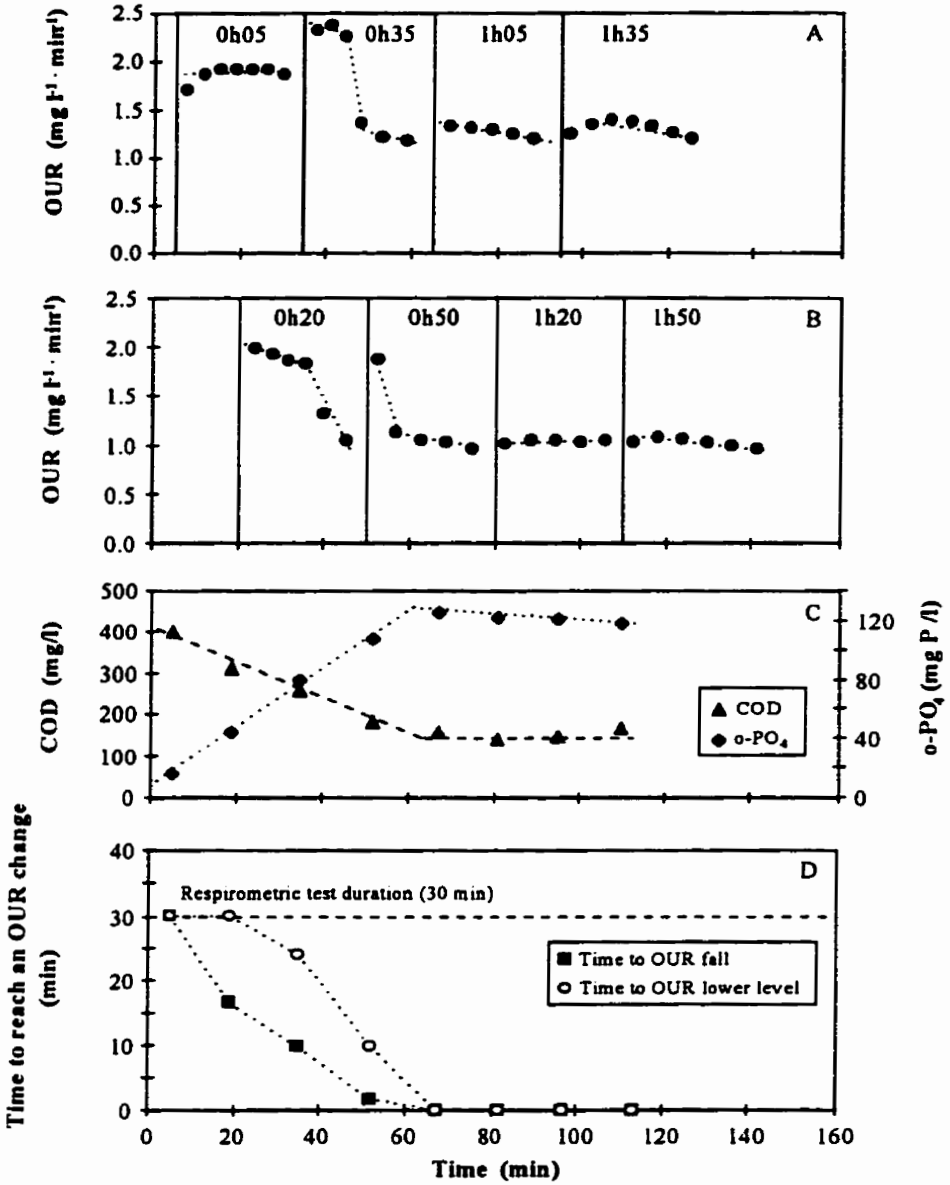


Figure 4.2 Operation of two respirometers in parallel in order to detect a fall in the respiration rate dynamics corresponding to the end of the assimilation of filtered COD. Acetate concentration was 500 mg COD/l. Samples were taken every 15 minutes and aerated for 30 minutes. A) OUR from the first respirometer, B) OUR from the second respirometer, C) filtered COD and o-PO_4 of the sample taken from the SBR, D) time needed to reach the fall and the new level in the OUR.

It is possible to link the pattern of the respiration rate to the state of the reactor during the anaerobic period by comparing Figures 4.2A, 4.2B and 4.2C. The first sample (0h05) contained enough COD so that after 30 minutes of aeration, no important change occurred in the respiration rate because the carbon source was available until the end of the test. For samples taken at 0h20, 0h35 and 0h50, a fall in the respiration rate was observed. As in Figure 4.1, this fall coincided to the moment when, during aeration, the available COD was completely assimilated and the uptake of phosphorus began. With each new sample, the COD concentration was lower and the time necessary to reach the fall in the respiration rate was shorter (Figure 4.2D). For the last four samples (1h05, 1h20, 1h35, 1h50), the respiration rates remained at a lower and nearly constant level. So, when the available rapidly biodegradable COD in the reactor was all taken up by the biomass, a sample taken from the reactor and submitted to aeration showed a respiration rate relatively constant but at a lower level compared with the first sample in which there was COD available in solution. The respiration rate pattern observed in Figures 4.2A and 4.2B indicated that there was no more rapidly biodegradable COD available left in the SBR from the fifth and following samples, a result that was confirmed by the COD analysis (Figure 4.2C). Repetition of this test (results not shown)[1] confirmed that this response was reproducible from cycle to cycle.

Tests were also performed using a COD concentration of 300 mg/l in the feed (Figure 4.3). The OUR pattern observed was comparable to that with 500 mg COD/l, except that, as there was less rapidly biodegradable COD (acetate) at the beginning of the cycle, the lower OUR level (Figure 4.3D) was reached at the third sample instead of being reached at the fifth one, indicating that no more COD was available from this time. This result was also confirmed by COD analysis (Figure 4.3C). So, the respirometric test gave a response that was function of the actual state and dynamics of the process.

These results indicated that a respirometric method could be used to detect the time of complete assimilation of VFAs in a rapid-fill SBR during the anaerobic period of a bio-P removal process. The proposed control strategy to determine when to stop the anaerobic period is as follows. Samples from the SBR are rapidly transferred into a respirometer and with an appropriate algorithm, the course of the respiration rate is evaluated in order to detect the fall in the respiration rate. Sampling and testing continue beyond the occurrence of the fall in the OUR until the fall had disappeared from the respiration rate profile and remains at a lower level for at least one more sample. The aerobic period can then begin.

In the case of a high acetate concentration in the feed resulting in a polyphosphate limitation, some excess of acetate would remain in solution till the end of the anaerobic period. The respirometric test would then indicate the presence of acetate with an identical OUR profile from sample to sample (the fall in the OUR would appear at about the same time). The algorithm used to detect the fall in the OUR would also have to compare actual respirometric test to the preceding ones. The anaerobic period could then be stopped even though this action would not prevent VFAs from leaking into the aerobic period.

Two respirometers were used in parallel to provide a detailed characterization of the OUR dynamics during the respirometry test. In full-scale conditions, only one respirometer could be used. In this case, the duration of each respirometry test would have to be shortened. To provide enough OUR values during such a test, the interval between the two set-points of the on-off aeration control system could be lowered. Preliminary tests have been made with dissolved oxygen concentration set between 50% and 70% of the saturation and between 50% and 60% of the saturation. Results indicated that with a reduction of the range between the set points, more OUR data were available and the OUR pattern could be recognized more rapidly.

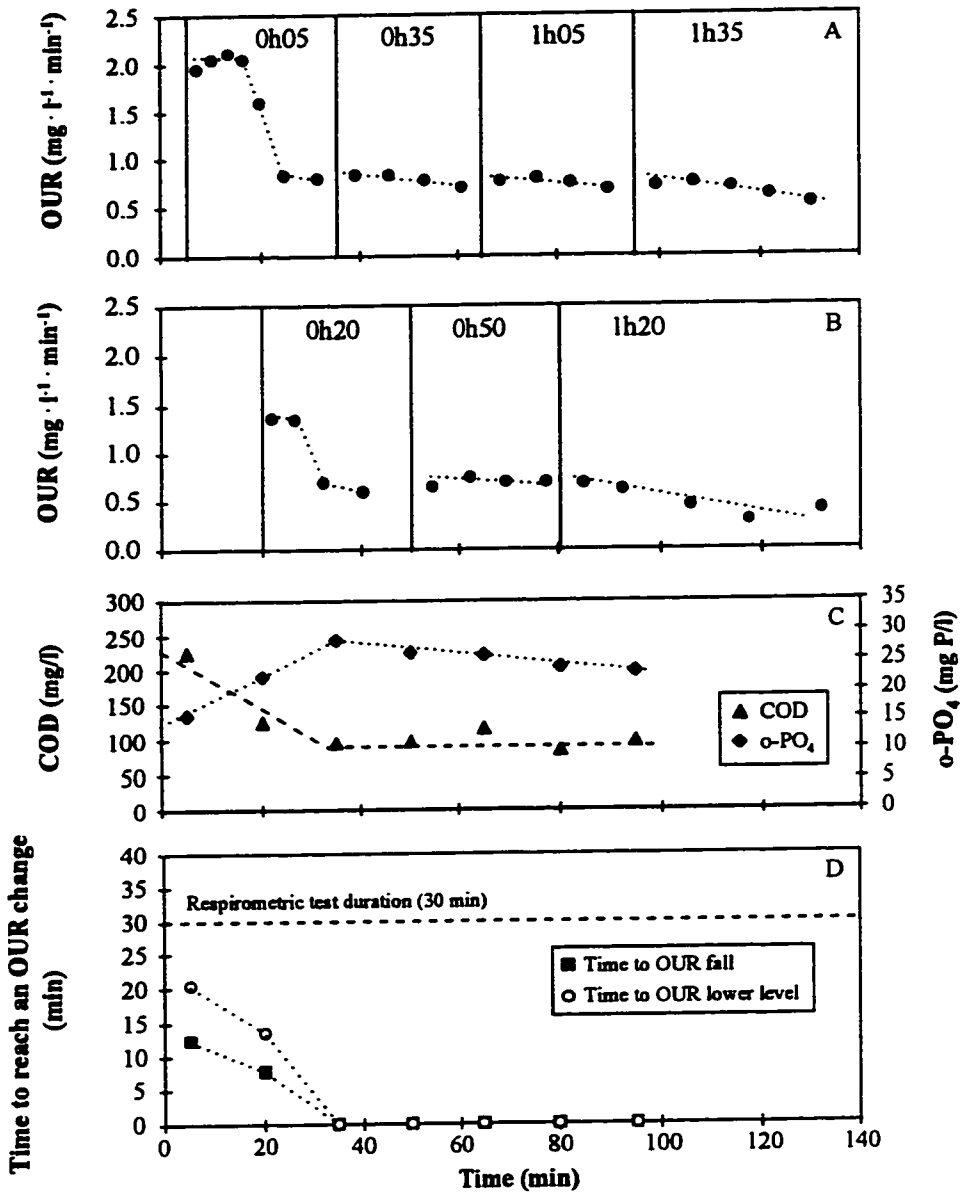


Figure 4.3 Operation of two respirometers in parallel in order to detect a fall in the respiration rate dynamics corresponding to the end of the assimilation of filtered COD. Acetate concentration was 300 mg COD/l. Samples were taken every 15 minutes and aerated for 30 minutes. A) OUR from the first respirometer, B) OUR from the second respirometer, C) filtered COD and o-PO_4 of the sample taken from the SBR, D) time needed to reach the fall and the new level in the OUR.

4.6 Conclusion

It is shown in this work that respirometry can be used not only to control aerobic processes but also the anaerobic period duration of a rapid-fill SBR bio-P process. Results obtained from respirometric tests showed that a fall in the respiration rate corresponded to the end of the filtered COD assimilation from a synthetic influent in which acetate was the sole carbon source. The respirometry test was reproducible from cycle to cycle for a constant feed composition and the pattern observed followed the variation of the readily available COD concentration in the feed. Improvement to the method would focus on shortening the respirometric test duration and on increasing the number of samples analyzed in order to indicate more accurately and more quickly the OUR dynamics.

4.7 Acknowledgments

The authors thank Denis Bouchard, Marguerite Décarie and Vanessa Marie for technical and experimental assistance.

4.8 References

COMEAU, Y. (1989). The Role of Carbon Storage in Biological Phosphate Removal from Wastewater. Ph.D. thesis, Department of Civil Engineering, University of British Columbia, Vanvouver, Canada.

COMEAU, Y., HALL, K.J. and OLDHAM, W.K. (1991). Indirect polyphosphate quantification in activated sludge. Wat. Res. J. Canada, 25 (2), 161-174.

ISAACS, S. and TEMMINK, H. (1996). Experiences with automatic N and P measurements of an activated sludge process in a research environment. Wat. Sci. Tech., 33 (1), 165-173.

LYNGGAARD-JENSEN, A., EISUM, N.H., RASMUSSEN, I., SVANKJAER JACOBSEN, H. and STENSTROM, T. (1996). Description and test of a new generation of nutrient sensors. Wat. Sci. Tech, 33 (1), 25-35.

SMOLDERS, G.J.F., VAN DER MEIJ, J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1994). Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process : stoichiometry and pH influence. Biotechnol. & Bioeng., 43, 461-470.

SPANJERS, H., OLSSON, G. and KLAPWIJK, A. (1993). Determining influent short-term biochemical oxygen demand by combining respirometry and estimation. Wat. Sci. Tech., 28 (11-12), 401-414.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1995). 19th ed, American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington DC, USA.

THORNBERG, D.E., NIELSEN, M.K. and ANDERSEN, K.L. (1993). Nutrient removal : on-line measurements and control strategies. Wat. Sci. Tech., 28(11-12), 549-560.

VANROLLEGHEM, P. (1994). On-line modelling of activated sludge processes : development of an adaptative sensor. Ph.D. thesis, BIOMATH department of applied mathematics, biometrics and process control, University of Gent, Gent, Belgium.

WENTZEL, M.C., LOEWENTHAL, R.E., EKAMA, G.A. and MARAIS, G.V.R. (1988). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part I: Enhanced culture. Water SA, 14 (2), 81-92.

WENTZEL, M.C., EKAMA, G.A., LOEWENTHAL, R.E., DOLD, P.L. and MARAIS, G.v.R. (1989). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part II : Experimental behaviour. Water SA, 15 (2), 71-88.

WENTZEL, M.C., MBEWE, A. and EKAMA, G.A. (1995). Batch test for measurement of readily biodegradable COD and active organism concentration in municipal waste waters. Water SA, 21 (2), 117-124.

CHAPITRE V
RESPIROMETRIC CHARACTERIZATION OF THE AEROBIC PERIOD OF AN SBR BIO-P PROCESS

Dans ce chapitre, une caractérisation des changements observés dans la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous est effectuée, le but étant de déterminer si le suivi et le contrôle de la période aérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en RBS est réalisable par une méthode respirométrique. Bien que certaines informations soient disponibles concernant la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous (Smolders *et al.*, 1995; Wentzel *et al.*, 1987; 1989; 1992), cette étude permet d'associer les changements observés à la dynamique de différentes réactions qui ont lieux au cours de ce procédé (accumulation du phosphore, nitrification).

Les résultats montrent qu'un changement de pente dans le profil du taux de consommation en oxygène dissous est associé à l'arrêt de l'accumulation du phosphore dans le cas d'une limitation en phosphore ou en PHA au cours de la période aérobie. Une chute du taux de consommation en oxygène dissous est observée lorsqu'une certaine quantité d'acétate présente au début de la période aérée a complètement été enlevée.

Cette étude ouvre la porte au développement d'un outil respirométrique pour le suivi de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique en RBS et permet d'envisager le contrôle de la durée de cette période par méthode respirométrique. Une stratégie d'opération basée sur le contrôle de la durée de la période aérobie est présentée au chapitre 6.

L'article présenté dans ce chapitre a été soumis à la revue *Water Research* (IAWQ)

MANUSCRIT #2
RESPIROMETRIC CHARACTERIZATION OF THE AEROBIC PERIOD OF AN SBR BIO-P PROCESS

5.1 Abstract

The oxygen uptake rate (OUR) dynamics of the aerobic period of a sequencing batch reactor (SBR) biological phosphorus (bio-P) removal process with a rapid-fill mode of operation was studied to propose a new control strategy based on the use of respirometric data. Limiting conditions of phosphorus, poly-β-hydroxyalcanoates (PHA) and anaerobic period duration in a lab-scale SBR were studied. Oxygen uptake rate was linked to the evolution of COD, o-PO_4, NH_4, PHA and glycogen dynamics under aerobic conditions. The end of soluble phosphorus uptake was determined by a reduction of slope in the OUR dynamics in the cases of complete phosphorus accumulation and incomplete phosphorus uptake resulting from an insufficient PHA content. A sharp fall in the OUR dynamics was observed at the time of disappearance of rbCOD in the case of a leakage of VFA from the anaerobic to the aerobic period. Respirometry could be used for the control of the aerobic period duration in the case of nitrogen excess (non-limiting condition) and for the implementation of a new control strategy based on the increase of the bio-P bacteria PHA content at steady-state.

5.2 Keywords

Aerobic period; biological phosphorus removal; process control; respirometry; sequencing batch reactor.

5.3 Introduction

Biological phosphorus (bio-P) removal is a process in which phosphorus is removed from wastewater by bacteria able to store polyphosphates intracellularly. An essential condition to favor the growth of a bio-P population is to have a process in which the biomass is exposed alternating anaerobic and aerobic (or anoxic) conditions. Polyphosphates are accumulated during the aerobic period and are used as an energy source, along with glycogen (Mino *et al.*, 1995 ; Smolders *et al.*, 1995), during the anaerobic period to take up and store volatile fatty acids (VFAs) into poly-β-hydroxyalcanoates (PHA).

Bio-P removal can be achieved in various types of biological reactors. Among them, the sequencing batch reactor (SBR) is a versatile system in which it is possible to achieve chemical oxygen demand (COD) removal, nitrification, denitrification and biological phosphorus removal. The operation of an SBR can be optimized by controlling the dissolved oxygen concentration, the cycle duration, the feed mode, the sludge (SRT) and the hydraulic (HRT) retention times. A rapid and static-fill sequence ensures that rapidly biodegradable COD (rbCOD) is available to bio-P bacteria for intracellular storage under anaerobic conditions. VFAs "leakage " from the anaerobic into the aerobic period should be avoided to preserve the bio-P removal potential of the biomass (Wentzel *et al.*, 1988) and avoid the proliferation of competing organisms

The operation mode of an SBR process is usually ruled by a fixed cycle and reaction period duration or by hydraulic constraints. These mode can result in time and energy losses when the reactions are completed before the end of the different anaerobic and aerobic periods. For example, orthophosphates could be completely taken up from solution before the end of the preset duration of the aerobic period. Orthophosphates could also be incompletely taken up because of a lack of intracellular PHA. In these

cases, extended aerated period duration would not allow for a better performance of the phosphorus removal. Alternatively, the reaction periods duration may not be long enough to allow for reactions to be completed.

On-line control strategies are currently available (Thornberg *et al.*, 1993) and continue to be developed to adjust the reaction periods duration in accordance to variable influent composition and biomass activity. Optimization of an intermittent aeration strategy to minimize external carbon addition and aeration in an SBR bio-P removal process was studied by Demuynck *et al.* (1994). A control strategy based on the automatic adjustment of cycle length and aerated period duration was suggested by Isaacs (1997). These strategies, however, were proposed to improve nitrogen removal.

The lack of on-line sensors reliability is a major difficulty in monitoring activated sludge processes (Vanrolleghem, 1994). Flow injection analysis (FIA ; Isaacs and Temmink, 1996) and micro-continuous flow analysis (μCFA ; Lynggaard-Jensen *et al.*, 1997) provide phosphorus and nitrogen analyses within approximately 5 minutes but these techniques are labor intensive and expensive. In recent years, the development of respirometry has generated much interest in the monitoring and control of activated sludge systems (Spanjers *et al.*, 1996). The availability of respirometric data allowed for the calculation of variables and parameters such as growth, death and respiration coefficients (Vanrolleghem, 1994), rapidly biodegradable BOD (Spanjers *et al.*, 1993) and rapidly biodegradable COD (Wentzel *et al.*, 1995). These techniques have been used for the control of aerobic and, in general, continuous flow processes.

The objective of this research was to evaluate the potential of using on-line respirometric data obtained during the aerobic period of a rapid-fill SBR bio-P process. Based on the observations made by Wentzel *et al.* (1987; 1989; 1992) and Smolders *et al.* (1995) on the behavior of respiration rate during the aerobic period of a bio-P

removal process, it was proposed to study the OUR profile according to the dynamics of the principal components implicated in the bio-P removal process (soluble COD, o-PO_4, ammonia nitrogen, nitrate, PHA and glycogen). Changes in the oxygen uptake rate (OUR) dynamics were identified to assist in the development of a control strategy for the optimization of an SBR bio-P process.

5.4 Materials and methods

5.4.1 Feed

The feed composition is shown in Table 5.1 and was based on that of Smolders *et al.* (1994) except that the acetate concentration was set at 300 or 500 mg COD/l, depending on the experimental period, and the phosphorus concentration at 20 mg P/l.

5.4.2 SBR bio-P process

The biological reactor was a 20 l CHEMAP fermentor (type f0020) with a 15 l working volume. Temperature was maintained at 20 ± 1°C and pH at 7.0 ± 0.1. During the aerobic period, medium-bubble aeration was used and the dissolved oxygen (D.O.) concentration was maintained between 60% and 80% of saturation by turning air on and off (at 20 °C, D.O. concentration at saturation is evaluated at 9.3 mg/l). D.O., pH and temperature probes were submerged in the mixed liquor and their output linked to a monitoring system. The sludge residence time (SRT) and hydraulic residence time (HRT) were maintained at 15 days and 16 hours, respectively. The rapid-fill SBR bio-P process characteristics for the periods corresponding to the discussed results are presented in Table 5.2.

Table 5.1 Feed composition used during the experimental periods

FEED			NUTRIENT SOLUTION	
500	mg COD/l	(0.641 g CH_3COONa/l) or	1.5	g $FeCl_3 \cdot 6H_2O$/l
300	mg COD/l	(0.385 g CH_3COONa/l)	0.15	g H_3BO_3/l
28	mg N/l	(0.107 g NH_4Cl/l)	0.03	g $CuSO_4 \cdot 5H_2O$/l
20	mg P/l	(0.088 g KH_2PO_4/l)	0.18	g KI/l
0.09	g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$/l		0.12	g $MnCl_2 \cdot 4H_2O$/l
0.036	g KCl/l		0.06	g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$/l
0.014	g $CaCl_2 \cdot 2H_2O$/l		0.12	g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$/l
0.001	g yeast extract/l		0.15	g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$/l
0.30	ml nutrient solution/l		10.0	g Na_2EDTA/l

Table 5.2 SBR bio-P process characteristics during the experimental periods.

Parameters	Units	day 43 (Fig. 5.1)	day 322 (Fig. 5.2)	day 291 (Fig. 5.3)	day 328 (Fig. 5.4)
COD_{sol} in	mg/l	503	488	267	503
COD_{sol} out	mg/l	19	46	19	29
o-PO_4 in	mg P/l	20.2	19.0	17.7	19.6
o-PO_4 out	mg P/l	0.9	1.1	8.2	0.0
N-NH_4 in	mg N/l	26.1	> 20	26.3	21.5
N-NH_4 out	mg N/l	0.1	0.1	0.1	0.1
N-NO_3 in	mg N/l	0.7	0.4	0.3	0.4
N-NO_3 out	mg N/l	5.0	4.7	8.5	6.0
MLSS	mg/l	2896	4556	2228	4081
MLVSS	mg/l	2030	3093	1568	2832
Poly-P (end of aerobic period)	g P/g MLVSS	10.5%	10.6%	4.9%	na

Note : na : not available; > : concentration greater than the high standard's concentration.

5.4.3 Cycle description

The SBR cycle lasted 8 hours and was composed of an anaerobic phase (3 h) of which the first 3 minutes were used for rapidly filling (without mixing) 50% of the working volume with influent, an aerobic phase (3.5 h) and an anoxic phase (0.5 h). Mixed liquor was wasted at the end of the anoxic phase for SRT control. The settling period lasted 1 hour and the supernatant was withdrawn during the last 20 minutes of this final period.

5.4.4 Respirometry

The respirometry tests were performed directly into the SBR during the aerobic period of the bio-P removal process to characterized the OUR dynamics according to various events. On-off control of dissolved oxygen between 60% and 80 % of saturation allowed to calculate the respiration rate during the " air-off" state. Dissolved oxygen concentration was recorded every 10 seconds on a data acquisition system during the 3.5 hours of the aerobic period.

During the aerobic period, samples were withdrawn periodically (every 10 to 30 minutes) and analyzed for soluble COD, orthophosphates, ammonia, nitrates, PHA and glycogen.

5.4.5 Analytical methods

Filtered (0,45 μm) COD, filtered o-PO_4, MLSS and MLVSS were analyzed according to Standard Methods (1995). The percentage of polyphosphates was determined according to the excess acetate addition method proposed by Comeau *et al.* (1991). PHA analysis was adapted from the method proposed by Renner and Braunegg (1996). Freeze dried activated sludge was hydrolyzed with 2 ml acidified methanol (5% v/v

H_2SO_4) containing 0,2% w/v benzoic acid as internal standard and 2 ml chloroform. Samples were heated at 105 °C during 3 hours and then were washed with 2 ml of distilled water. The external standard was a P(HB-co-HV) co-polymer (Biopol). The chloroform phase was withdrawn and than analyzed by gaseous chromatography (GC). The GC was equipped with a FID detector and a capillary "on-column" column. Injected sample volume was 1 µl. The helium pressure through the 15 m-long HP1 capillary column was 138 kPa. The flame ionization detector was supplied with 520 ml of air/min, 33 ml of H_2/ min and auxiliary helium at 275 kPa. The injection port temperature was 180 °C and the detector temperature was 220 °C. The initial oven temperature was 90 °C. Three ramps of temperature were imposed: 15 °C/min to reach 60 °C, 8 /min to reach 100 and 30 °C to reach a final temperature of 220 °C . The mean retention times of chloroform, HB, HV and benzoic acid were 1.44, 1.87, 2.44 and 4.18 min, respectively. Glycogen was extracted from freeze-dried activated sludge by solubilization at 100 °C during 6 hours with 1.5 ml of KOH 50%. Glycogen was then precipitated with 9 ml of ice-cold absolute ethanol and put into a freezer during 8 hours to facilitated the precipitation. Precipitated glycogen was heated in a bath of water at boiling point and hydrolyzed with 2.5 ml of HCl 4N during 6 hours. Before quantification by liquid chromatography, sample was filtered on a Gelman filter (0.45µm) and color was removed with Sep-pak C_{18} (Waters). The liquid chromatograph was equipped with a pre-column (Bio-Rad Deashing cartiges), a column (Bio-Rad Aminex HPX-87H) and a detector (Waters 410 differential refractometer). Column and detector temperatures were 40 °C and 45 °C, respectively. Injected sample volume was 100 µl. Eluent was H_2SO_4 0,01N and flow rate was 0.6 ml/min.

5.4.6 Operating conditions

Three operating conditions were studied to characterize different cases that can prevail during treatment. In each case, the process was monitored for D.O., soluble COD, o-PO_4, NH_4, NO_3, PHA and glycogen concentrations.

1. *Phosphorus limiting condition* : the feed was composed of 500 mg COD/l and 20 mg P/l. According to Smolders *et al.* (1995), the minimum ratio required to resultin complete phosphorus removal is 25.8 mg COD (as acetate)/mg P. Phosphorus is expected to be completely accumulated before the exhaustion of PHA for this condition (25 mg COD/mg P) even if the COD/P ratio is at the limit recommended by Smolders *et al.* (1995).

2. *PHA limiting condition* : the feed was composed of 300 mg COD/l and 20 mg P/l. With a COD/P ratio of 15 mg COD/mg P, it was assumed that PHA production would not be sufficient to allow for complete phosphorus removal.

3. *Anaerobic period duration limiting condition* : the case of VFA leakage from the anaerobic to the aerobic period was simulated by performing batch tests with 3 liters of mixed liquor taken 15 minutes after the beginning of the anaerobic period so that acetate would still be present in solution. The 3 liters sample was then aerated. D.O. concentration was maintained between 40% and 80% of saturation with an on-off control system.

To perform the experiments according to the studied cases, the SBR has been fed with 500 mg COD/l and 20 mg P/l from day 1 to day 222, with 300 mg COD/l and 20 mg P/l from day 223 to day 298 and again with 500 mg CDO/l and 20 mg P/l from day 298 to day 543.

5.5 Results and discussion

5.5.1 Phosphorus limiting conditions

The effect of complete phosphorus accumulation before the end of the aerobic period on the dynamics of OUR is shown in Figures 5.1 and 5.2. During these experiments, the feed was composed of 500 mg COD/l and 20 mg P/l. At this COD/P ratio of 25, the amount of PHA produced (Fig. 5.1D and 5.2D) was sufficient to result in complete biological phosphorus accumulation.

As shown in Figure 5.1A, soluble phosphorus uptake was completed after about 60 minutes from the beginning of the aerobic period. At the same time, the slope of the respiration rate changed to reach a lower value (Fig. 5.1B). Since nitrification continued during this period and PHA was not completely metabolized, the observed change in the respiration rate dynamics can be associated with the disappearance of phosphorus, and then with the end of the polyphosphates reserves storage. From this change (after the dashed vertical line), OUR corresponds to the combined D.O. consumption for nitrification, PHB catabolism (for growth and glycogen production) and endogenous respiration.

Ammonia concentration increased during the first hour of the anaerobic period. This behavior was unexpected and remain unexplained but was not observed again during subsequent experiments. Nitrification rate became slower at the time of complete phosphorus uptake. This could be the result of a phosphorus limitation affecting the metabolism of nitrifying bacteria.

As glycogen was not analyzed during this experiment, PHB consumption cannot be directly correlated to glycogen dynamics. PHV was not detected.

The effect of complete phosphorus accumulation along with complete nitrification during the aerobic period on the OUR dynamics is presented in Figure 5.2. This experimentation was performed during the second period where feeding was 500 mg COD/l and 20 mg P/l. In this case, two changes in the OUR dynamics can be observed (Fig. 5.2B). The first one, at 240 minutes (dotted vertical line), is associated with complete soluble phosphate uptake and the second, at about 300 minutes (dashed vertical line), with the disappearance of ammonia by nitrification. In this case, disappearance of soluble phosphorus could be detected from the respiration rate dynamics and distinguished from the end of the nitrification reaction since changes were clearly distinct.

Nitrification was present during the process and this reaction participates in the changes observed in the OUR dynamics. In the case of the simultaneous end of nitrification and phosphorus uptake, only one fall in the OUR dynamics would be observed but the resulting respiration rate would be at a lower level than for a change resulting from complete phosphorus removal only, without nitrogen limiting condition. The resulting OUR would be associated to growth, glycogen production and endogenous respiration. This kind of behavior was reported during experiments under simultaneous carbon oxidation and nitrification for the evaluation of kinetic parameters by respirometric method (Vanrolleghem and Verstraete, 1993; Vanrolleghem and Coen, 1995; Spanjers and Vanrolleghem, 1995). If OUR dynamics were used alone to interpret the process behavior, care should be taken since changes in the OUR dynamics could lead to misinterpretation of the results in these latter cases. Periodic characterization of the influent and process should help to minimize this risk.

PHA was composed of PHB and PHV (Fig. 5.2D) whereas in the first case (Fig. 5.1D), only PHB was detected. An modification of the microbial population and the presence of fermentation products could have led to this difference since results presented in Figure 5.2 were obtained during the second period at 500 mg COD/l and 20 mg P/l.

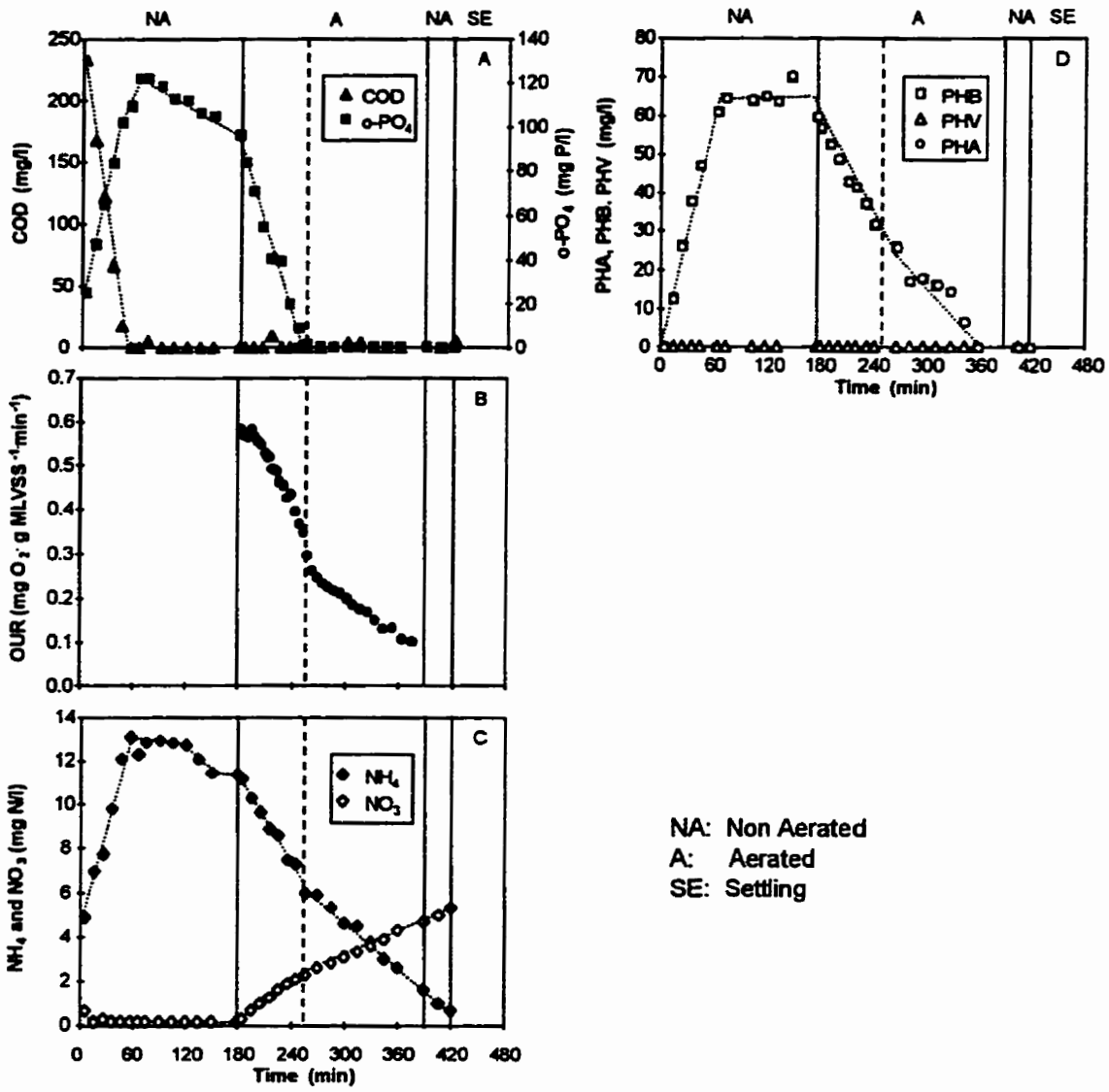


Figure 5.1 Effect of a phosphorus limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 500 mg COD/l, 20 mg P/l. Cycle: 3h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5h anoxic, 1h settle and draw. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV. (----) end of phosphorus accumulation.

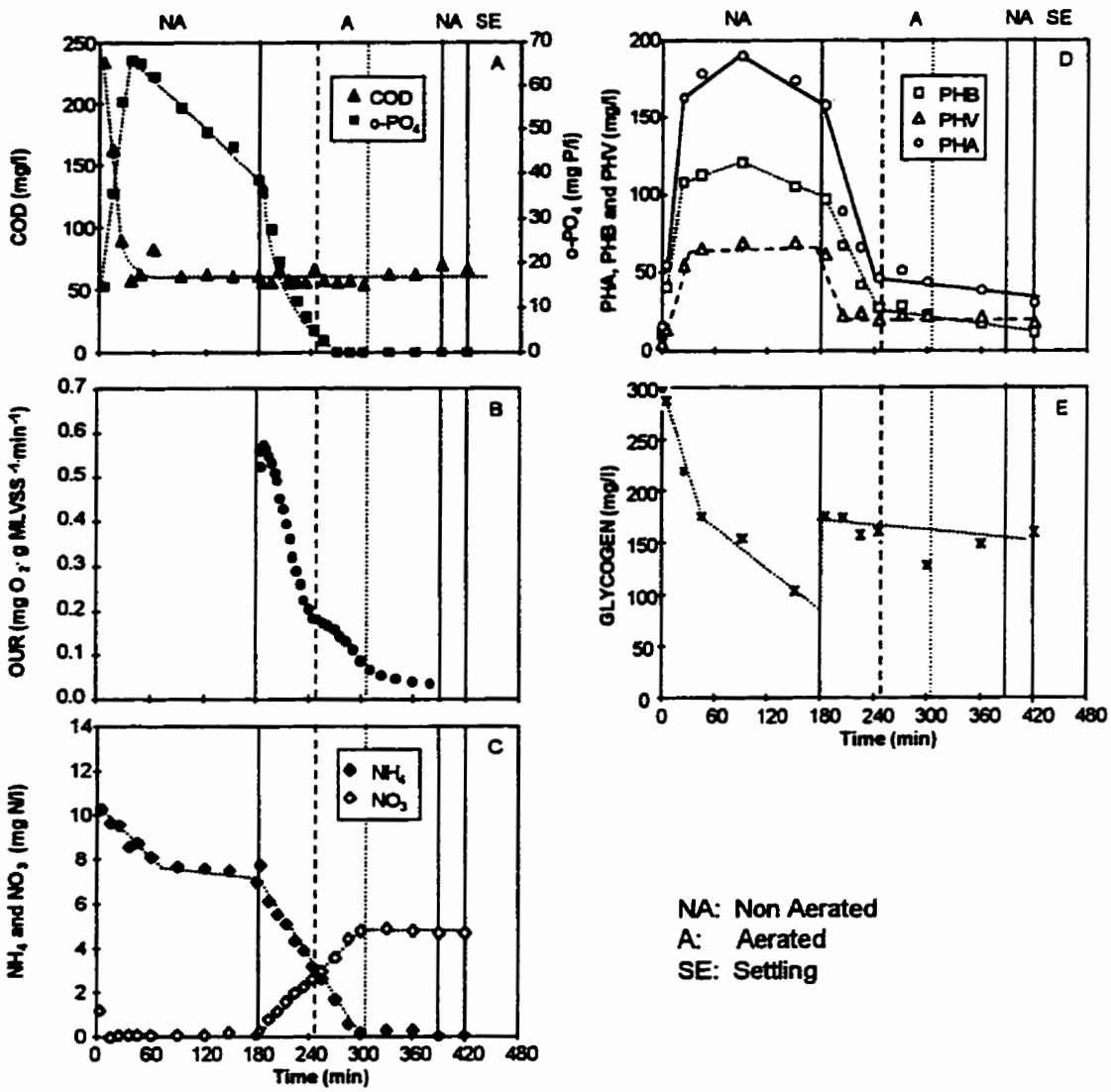


Figure 5.2 Effect of a phosphorus limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 500 mg COD/l, 20 mg P/l. Cycle: 3h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5h anoxic, 1h settle and draw. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV; E) Glycogen. (——) end of phosphorus accumulation; (·····) end of nitrification.

The OUR dynamics observed after the complete phosphorus uptake is linked to the consumption of PHA for growth and glycogen production according to Smolders *et al.* (1995). However, for the synthesis of polyphosphates, only a very small part of the PHA is used so that the change in the PHA dynamics associated to the end of polyphosphates production should not have the same magnitude as for the OUR dynamics. It can be observed in Figure 5.2D that the rate of PHA consumption slowed after complete phosphorus uptake. Considering that a COD/P ratio of 25 mg COD/mg P is a minimum value for complete phosphorus removal by an enriched culture (Smolders *et al.*, 1995), it is possible that during the aerobic period, PHA exhaustion occurred just after the complete phosphorus uptake even though some PHA remained in the biomass. This PHA may have been associated to a competing microorganism of the type glycogen accumulating organisms (GAO) (Matsuo *et al.*, 1992, Cech and Hartman, 1993, Carucci *et al.*, 1995 and Mino *et al.*, 1995).

Glycogen, a key element in the metabolism of bio-P bacteria, did not show a behavior consistent with the one proposed by Mino *et al.* (1995) and Smolders *et al.* (1995). Glycogen should be consumed and produced during the anaerobic and aerobic periods, respectively. During this experiment, glycogen production was not observed. Matsuo *et al.* (1992), Cech and Hartman (1993), Carucci *et al.* (1995) and Mino *et al.* (1995) observed that glycogen dynamics was also dependent of another metabolism so that the observed PHA and glycogen behavior could be the result of VFA competition between bio-P bacteria and glycogen accumulating organisms (GAO). Limited information about the metabolism of GAO, however, is available at this time.

5.5.2 PHA limiting conditions

The effect of PHA exhaustion before the end of the aerobic period on the OUR dynamics is shown in Figure 5.3. The feed for this experiment was composed of 300 mg COD/l and 20 mg P/l (COD/ P of 15). Complete aerobic phosphorus uptake was

not possible even if a residual amount of PHA remained in the biomass between the end of the phosphorus accumulation and the end of the aerobic period. The residual PHA concentration (Fig. 5.3D) was assumed to be unavailable to bio-P bacteria. This latter observation supports the hypothesis of a competition between bio-P bacteria and GAO made previously.

Two changes in the OUR dynamic were observed, first when soluble phosphorus was no more taken up and second, when PHA consumption stopped (Fig. 5.3B). Thus, the end of phosphorus uptake, even if it was not down to zero, could be detected by the change of slope in the OUR profile. In this case, the change of slope in the OUR must have resulted from PHA exhaustion in the bio-P bacteria.

A second inflection in the OUR profile was associated to the end of nitrification (Fig. 5.3C). The specific OUR reached between 240 and 320 minutes was higher than in Figure 5.2B indicating a greater specific nitrifying activity. The lower COD concentration in the feed and changes in the operating conditions could have both reduced heterotrophic biomass growth and favored nitrifiers.

Once again the behavior of glycogen was not consistent with that reported in the literature. A small consumption was observed during the anaerobic period whereas an important production occurred during the aerobic period. Soluble COD and PHA concentrations did not change enough to be associated to the aerobic glycogen production.

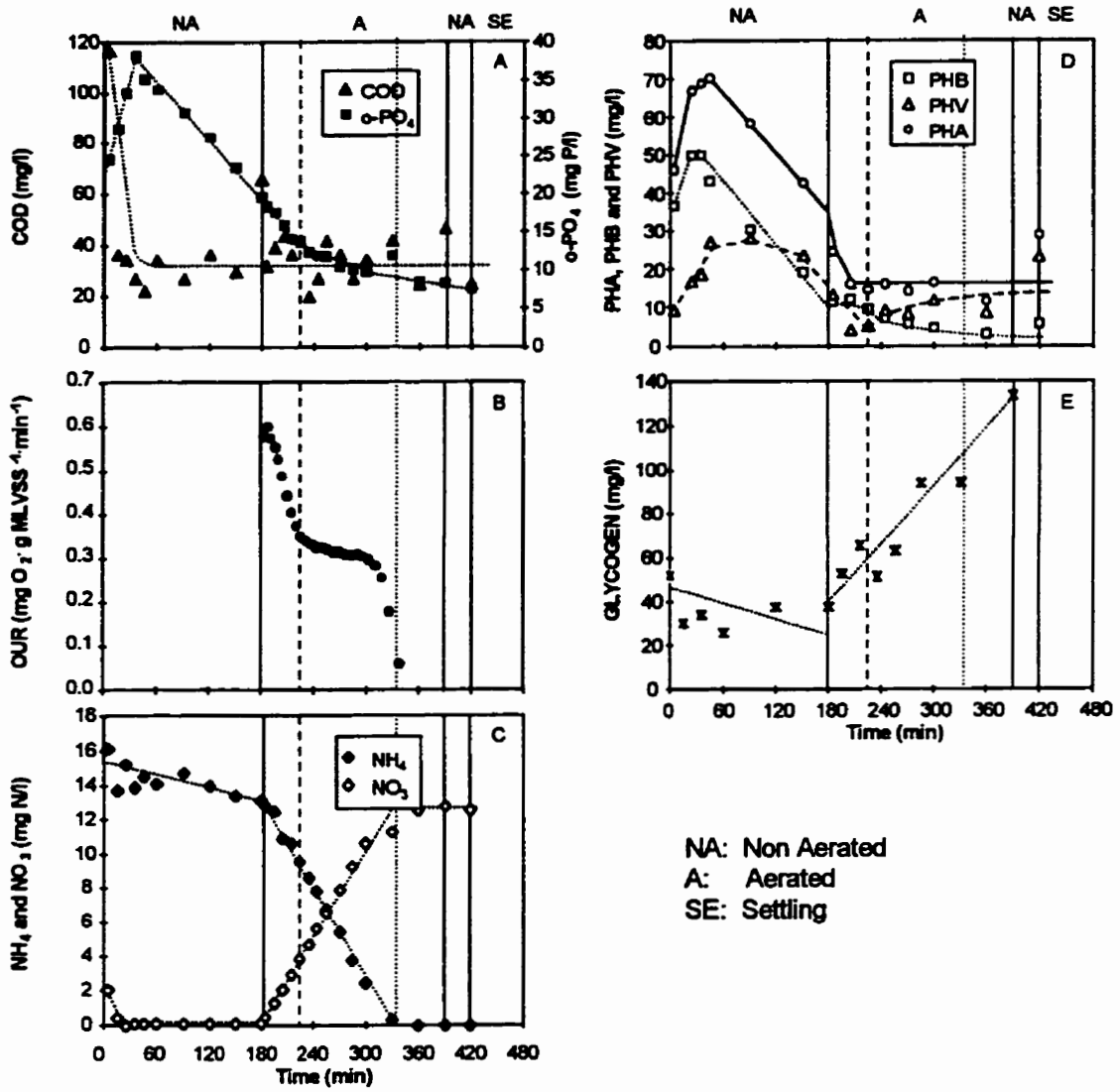


Figure 5.3 Effect of a PHA limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 300 mg COD/l, 20 mg P/l. Cycle: 3h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5h anoxic, 1h settle and draw. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV; E) Glycogen. (----) end of phosphorus accumulation; (·····) end of nitrification.

5.5.3 Limitation in the anaerobic period duration

The effect of a COD leakage from the anaerobic to the aerobic period on the OUR dynamics is presented in Figure 5.4. The OUR firstly decreased to reach a plateau during the time COD was taken up. A sharp fall took place in the OUR when COD consumption stopped. Wentzel *et al.* (1989) suggested that this sharp fall was associated to acetate uptake for growth, PHA production and phosphorus release by bio-P bacteria. However, acetate uptake by non bio-P bacteria could have participated to this change in the OUR dynamics. Differentiating between the end of aerobic phosphorus uptake and acetate uptake resulting from a leakage from the anaerobic to the aerobic period could be performed since in the latter case, a sharp fall in the OUR dynamics was observed as opposed to a change of slope, as it was observed in the case of phosphorus and PHA limiting conditions.

While COD was consumed (0 to 30 minutes), PHB was produced whereas PHV remained at the same level. A few minutes after the end of COD uptake, simultaneous PHB consumption and PHV production were observed whereas glycogen remained at the same level. Since PHV cannot be produced from PHB alone, it was assumed that a part of PHB was metabolized for glycogen production and then transformed into PHV. Glycogen remained at the same concentration during this reaction but could be an intermediary for PHV production from PHB. Presence of fermentation products (propionic acid for example) combined with depolymerized PHB could also results in polymerization of PHV.

PHV production corresponded with an OUR increase. Since the dynamics of the other components did not present a similar change at that time, the shift in the OUR seemed to be associated with this PHV production. More investigation is needed to explain this behavior.

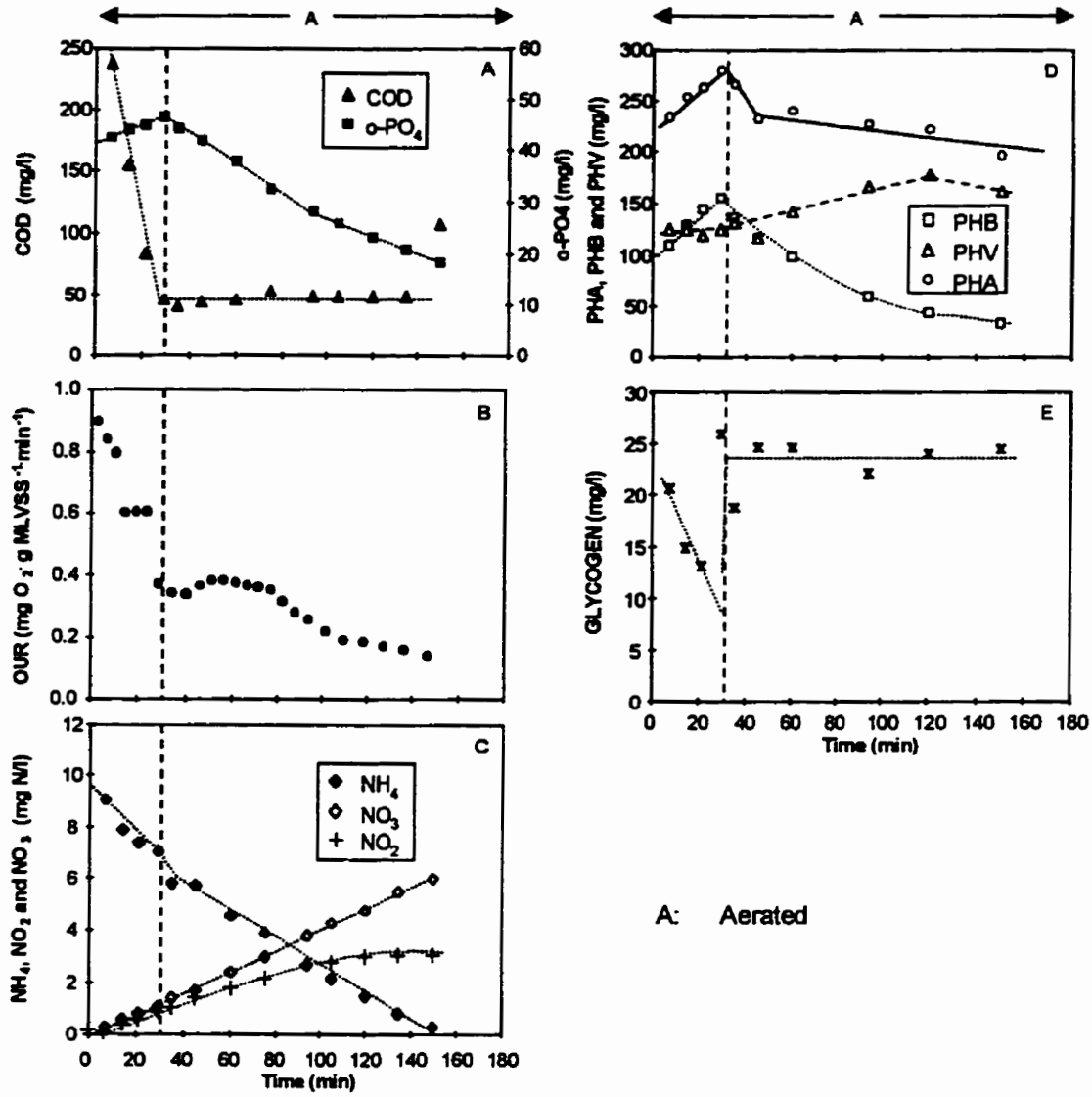


Figure 5.4 Effect of an anaerobic period duration limiting condition on the OUR dynamics in a SBR bio-P process. Feed: 500 mg COD/l, 20 mg P/l. Sample was taken 15 minutes after the beginning of the anaerobic period and aerated. A) DCO, o-PO_4; B) OUR; C) NH4, NO3; D) PHA, PHB. PHV; E) Glycogen. (----) end of filtered COD uptake.

5.6 Discussion

Some surface aeration during the anaerobic period was caused by mixing (see Fig. 5.1, 5.2 and 5.3). Bubbling gaseous nitrogen could have prevented this phenomenon. Surface aeration was not detected by D.O. monitoring but was sufficient to result in slow phosphorus uptake. A confirmation of this explanation was made by blowing gaseous nitrogen in the reactor head space. Without surface oxygen transfer, the phosphorus concentration reached a plateau at the time of disappearance of rapidly available COD and no phosphorus uptake was observed. The surface aeration could have influenced the development of the microbial population.

A control strategy could be developed to optimize the aerobic period duration considering that changes occurring in the respiration rate dynamics are associated with the end of specific reactions and that an observation of these changes could be automated. Detection of inflection points in the OUR profile, associated to the end of phosphorus uptake (because of complete consumption of soluble phosphorus or a lack of PHA) could give the signal to stop aerating the biomass. A sharp fall in the OUR dynamics would indicate that rapidly biodegradable COD was present at the beginning of the aerobic period. A longer anaerobic period duration could prevent performance from deteriorating if this observation is made frequently.

Such control could prevent an excessive aeration period duration and PHA consumption. Indeed, prolonging the aerobic period for a longer time than needed for complete phosphorus uptake can lead to PHA exhaustion since growth and glycogen production continue after this point. Maintaining a higher PHA concentration at steady-state could allow bio-P bacteria to denitrify (Mino *et al.*, 1995; Murnleitner *et al.*, 1995; Wachtmeister *et al.*, 1997). A higher PHA content at steady-state could also improve the performance and robustness of a bio-P removal process fed with a wastewater showing a variable composition over time. The high PHA content could

furnish the energy necessary to complete phosphorus accumulation during occasional carbon limiting conditions in the influent.

Figures 5.2, 5.3 and 5.4 indicate that glycogen did not follow a behavior reliable and consistent with the one proposed by Mino *et al.* (1995) and Smolders *et al.* (1995) for example. However, competition between bio-P bacteria and glycogen accumulating bacteria (GAO) has been reported since a few years ago only and more information about GAO metabolism is needed. However, OUR dynamics was not disturbed by glycogen behavior except in the case of VFA leakage from the anaerobic to aerobic phase in which a shift in the OUR seemed to be associated with the PHV production where glycogen could be an intermediary.

5.7 Conclusion

The aim of this study was to characterize the OUR dynamics during limiting condition of 1) phosphorus, 2)PHA and 3) anaerobic period duration. It was shown that a change of slope in the OUR dynamics was observed when phosphorus uptake stopped during phosphorus and PHA limiting conditions. A sharp fall occurred in the OUR profile when COD consumption ended during duration limiting conditions of anaerobic period (case of VFA leakage). Distinguishing between simultaneous bio-P removal and nitrification may be challenging.

PHA consumption was completed during the aerobic period for the experiment performed at the beginning of the experimental period (Fig. 5.1). Subsequent results showed that after the end of phosphorus uptake, PHA consumption rate was lower and a residual concentration was remaining at the end of the cycle. The presence of a residual PHA concentration could be the result of competition for VFAs between bio-P

bacteria and glycogen accumulating organisms (GAO). Residual PHA would be available for GAO..

A new operating strategy based on the control of the aerobic period duration according to the OUR profile could be developed to improve the performance and robustness of an SBR bio-P removal process.

5.8 Acknowledgments

The authors thank Denis Bouchard (Department of Civil Cngineering), Claude Hade and Lucie Landry (Agropur) for technical assistance.

5.9 References

CARUCCI, A., LINDREA, K., MAJONE, M. and RAMADORI, R. (1995). Dynamics of the anaerobic utilization of organic substrates in an anaerobic/aerobic sequencing batch reactor. Wat. Sci. Tech., 31(2), 35-43.

CECH, J.D. and HARTMAN, P. (1993) Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems. Wat. Res., 27(7), 1219-1225.

COMEAU, Y., RABINOWITZ, B., HALL, K.J. and OLDHAM, W.K. (1987). Phosphate release and uptake in enhanced biological phosphorus removal from wastewater. Wat. Poll. Cont. Fed., 59(7), 707-715.

COMEAU, Y. (1990). La déphosphatation biologique - procédés et conception. Sciences et Techniques de l'Eau, 23(2), 199-219.

COMEAU, Y., HALL, K.J. and OLDHAM, W.K. (1991). Indirect polyphosphate quantification in activated sludge. Wat. Res. J. Canada, 25 (2), 161-174.

DEMUYNCK, C., VANROLLEGHEM, P., MINGNEAU, C., LIESSEN, J. and VERSTRAETE, W. (1994). NDBEPR process optimization in SBRs: reduction of external carbon-source and oxygen supply. Wat. Sci. Tech., 30 (4), 169-179.

ISAACS, S. and TEMMINK, H. (1996). Experiences with automatic N and P measurements of an activated sludge process in a research environment. Wat. Sci. Tech., 33 (1), 165-173.

ISAACS, S. (1997). Automatic adjustment of cycle length and aeration time for improved nitrogen removal in an alternating activated sludge process. Wat. Sci. Tech., 35(1), 225-232.

LYNGGAARD-JENSEN, A., EISUM, N.H., RASMUSSEN, I., SVANKJAER JACOBSEN, H. and STENSTROM, T. (1997). Description and test of a new generation of nutrient sensors. Wat. Sci. Tech., 33 (1), 25-35.

MATSUO, T., MINO, T. and SATOH, H. (1992) Metabolism of organic substances in anaerobic phase of biological phosphate uptake process. Wat. Sci. Tech., 25(6), 83-92.

MINO, T., LIU, W., KURISU, F. and MATSUO, T. (1995). Modeling glycogen storage and denitrification capability of microorganisms in enhanced biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech., 31(2), 25-34.

MURNLEITNER, E., KUBA, T, VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1996). An integrated metabolic model for the aerobic and denitrifying biological phosphorus removal. Biotechnol. & Bioeng., 54(5), 434-450.

RENNER, G. and BRAUNEGG, G. (1996). Production of short side chain polyhydroxyalcanoates by various bacteria from the rRNA superfamilly III. Appl. Microbiol. and Biotechnol., 46(3), 268-272.

SMOLDERS, G.J.F., VAN DER MEIJ, J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1994). Stoichiometric model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process. Biotechnol. & Bioeng., 44, 837-848.

SMOLDERS, G.J.F., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1995). A metabolic model for the biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech., 31(2), 79-93.

SPANJERS, H., OLSSON, G. and KLAPWIJK, A. (1993). Determining influent short-term biochemical oxygen demand by combining respirometry and estimation. Wat. Sci. Tech., 28 (11-12), 401-414.

SPANJERS, H. and VANROLLEGHEM, P. (1995). Respirometry as a tool for rapid characterization of wastewater and activated sludge. Wat. Sci. Tech., 31(2), 105-114.

SPANJERS, H., VANROLLEGHEM, P. OLSSON, G. and DOLD, P. (1996). Respirometry in control of the activated sludge process. Wat. Sci. Tech., 34(3-4), 117-126.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1995). 19th ed, American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington D.C.

THORNBERG, D.E., NIELSEN, M.K. and ANDERSEN, K.L. (1993). Nutrient removal : on-line measurements and control strategies. Wat. Sci. Tech., 28(11-12), 549-560.

VANROLLEGHEM, P. and VERSTRAETE, W. (1993). Simultaneous biokinetic characterization of heterotrophic and nitrifying populations of activated sludge with an on-line respirographic biosensor. Wat. Sci. Tech., 28(11-12), 377-387.

VANROLLEGHEM, P. (1994). On-line modeling of activated sludge processes : development of an adaptive sensor. Ph.D. Thesis, BIOMATH Department of Applied Mathematics, Biometrics and Process Control, University of Gent, Gent, Belgium.

VANROLLEGHEM, P. and COEN, F., (1995). Optimal design of in-sensor-experiments for on-line modeling of nitrogen removal processes. Wat. Sci. Tech., 31(2), 149-160.

WACHTMEISTER, A., KUBA, T., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1997). A sludge characterization assay for aerobic and denitrifying phosphorus removing sludge. Wat. Res., 31(3), 471-478.

WENTZEL, M.C., DOLD, P.L., LOEWENTHAL, R.E., EKAMA, G.A. and MARAIS, G.V.R. (1987). Experiments towards establishing the kinetics of biological excess phosphorus removal. In: Advances in Water Pollution Control: Biological Phosphate Removal from Wastewaters, Ramadori, R. ed., Pergamon Press, Oxford, U.K., 79-97.

WENTZEL, M.C., LOWENTHAL, R.E., EKAMA, G.A. and MARAIS, G.V.R. (1988). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part I: Enhanced Culture. Water SA, 14 (2) , 81-92.

WENTZEL, M.C., EKAMA, G.A., LOEWENTHAL, R.E., DOLD, P.L. and MARAIS, G.V.R. (1989). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part II : Experimental Behavior. Water SA, 15 (2), 71-88.

WENTZEL, M.C., EKAMA, G.A. and MARAIS, G.V.R. (1992). Processes and modeling of nitrification denitrification biological excess phosphorus removal systems – A review. Wat. Sci. Tech., 25(6), 59-82.

WENTZEL, M.C., MBEWE, A. and EKAMA, G.A. (1995). Batch test for measurement of readily biodegradable COD and active organism concentration in municipal waste waters. Water SA, 21 (2), 117-124.

CHAPITRE VI
CONTROL OF THE AEROBIC PERIOD DURATION FOR THE OPTIMIZATION OF AN SBR BIO-P PROCESS

Dans ce chapitre, l'étude d'une nouvelle stratégie d'opération du procédé de déphosphatation biologique en RBS basée sur le contrôle de la durée de la période aérobie est présentée. Cette étude met en évidence la capacité qu'ont les bactéries déphosphatantes d'accumuler des PHA. L'accumulation de PHA aux cours de cycle favorisés par leur rapport carbone/phosphore à l'alimentation permettrait de pallier aux pertes d'efficacité survenant lorsque certains cycles sont alimentés avec un affluent déficient en acides gras volatils.

Les résultats expérimentaux démontrent un potentiel pour l'augmentation de la concentration en PHA par les bactéries déphosphatantes. Toutefois la compétition pour le substrat par les différents microorganismes contribue à réduire ce potentiel. Des simulations montrent que l'application de la stratégie d'opération permettrait de pallier aux variations du rapport DCO/P à l'alimentation, pour une certaine gamme de concentrations.

Les caractéristiques du métabolisme des bactéries déphosphatantes pourraient devenir une base, avec les contraintes hydrauliques et cinétiques, sur laquelle le contrôle du procédé de déphosphatation biologique pourrait s'appuyer.

Ce chapitre est complémentaire aux deux précédents en ce sens qu'il permet de rendre compte des performances potentielles d'une nouvelle stratégie d'opération pour laquelle des méthodes respirométriques pourraient etre utilisées pour le contrôle des périodes anaérobie (chapitre 4) et aérobie (chapitre 5). L'article présenté dans ce chapitre a été soumis à la revue: *Biotechnology and Bioengineering*.

MANUSCRIT #3

CONTROL OF THE AEROBIC PERIOD DURATION FOR THE OPTIMIZATION OF AN SBR BIO-P PROCESS

Alain Larose[1], Michel Perrier[1], Yves Comeau[2]

[1] Department of Chemical Engineering, (Michel.Perrier@mail.polymtl.ca),

[2] Department of Civil, Geological and Mining Engineering,

Ecole Polytechnique 2900 Edouard-Montpetit blvd., Montreal (Quebec) Canada

H3C 3A7

6.1 Abstract

The aim of this study was to evaluate the potential of implementing a new control strategy to improve the performance and robustness of a rapid-fill sequencing batch reactor in a biological phosphorus removal process. The proposed strategy is to stop the aerobic period at the time of complete phosphorus uptake to minimize the consumption of PHA contained in the biomass. Lab-scale experiments were performed with a COD/P ratio in the feed of 15 and 25 mg COD/mg P. Results indicated that it would be difficult to maintain high levels of PHA during cycles fed with a 25 mg/mg COD/P ratio because the competition for substrate reduces the yield of PHA production by bio-P bacteria. The model of Smolders *et al.* (1995) could not represent adequately the process dynamics under surface aeration condition even with a minor calibration. Simulations based on this model demonstrated that implementation of the control strategy allowed to maintain good phosphorus removal performance for a sudden fall in the COD/P ratio. Improved performance was obtained

for alternating COD concentration in the feed (300 and 500 mg COD/l) whereas for an alternating phosphorus concentration (20 and 33 mg P/l) the strategy failed. Implementation of the control strategy could increase the amount of phosphorus removed daily and reduce the size of the bioreactors because high a PHA level allows for a faster phosphorus uptake during the aerobic period.

6.2 Keywords

Biological phosphorus removal; control strategy; optimization; process control; sequencing batch reactor.

6.3 Introduction

Adaptation of the biological phosphorus (bio-P) removal process to industrial wastewaters is a relatively new field of application. These effluents normally have higher COD and phosphorus concentrations than municipal wastewaters and a variable hourly composition. Comeau *et al.* (1996) used a sequencing batch reactor (SBR) for the bio-P removal of a high strength cheese factory effluent (2100 total COD/l and 70 mg P/l). The bio-P removal process was performed on a pre-fermented wastewater and reached a total effluent phosphorus concentration as low as 8 mg P/l.

Bioprocess design is generally based on a periodical mean concentration of the components to be removed. This can result in variable biotreatment efficiency when there are fluctuations in the substrate and nutrient concentrations or in a waste of energy and capital expenditure if the reactor is oversized. On-line monitoring of dynamics and process control can improve the performance of such processes (Thornberg *et al.* 1993). However, the lack of reliability of on-line sensors is a major difficulty for monitoring biological processes (Vanrolleghem, 1994). Use of " in-

sensor-experiments" (Vanrolleghem and Verstraete, 1993; Vanrolleghem and VanDaele, 1994) has led to better control and understanding of various biological processes in N-removal systems, but bio-P removal process is of a complex nature and the use of existing models is difficult to implement. Nevertheless, actual knowledge of the bio-P removing bacteria metabolism can assist in developing new control strategies.

An essential condition to enhance the growth of a bio-P removing population in an activated sludge process is to expose the biomass to alternating anaerobic and aerobic (or anoxic) conditions. The production and consumption of poly-β-hydroxyalkanoates (PHA) is a key factor to maximize accumulation of intracellular polyphosphates (poly-P) reserves by bio-P bacteria. During the anaerobic period, poly-P are used as an energy source, along with glycogen (Mino *et al.*, 1995a; Smolders *et al.*; 1995), to take up and store volatile fatty acids (VFAs) into PHA. Phosphorus is released as a result of this reaction. During the subsequent aerobic period, PHA are used, not only for poly-P storage, but also for the growth of bio-P bacteria and for glycogen production (Mino *et al.*,1995a; Smolder *et al.*, 1995).

During the aerobic period, poly-P storage is independent of growth and glycogen production. Extending the aerobic period for a time longer than for complete phosphorus accumulation by bio-P bacteria can lead to the depletion of the PHA reserves because growth and glycogen production continue. Thus, a control strategy could be implemented during the aerobic period that would limit the consumption of the stored PHA. A carbon/phosphorus ratio of 25.8 mg DCO(as acetate)/mg P (Smolders *et al.*, 1995) was shown to lead to complete phosphorus uptake. A lower COD/P ratio would result in an incomplete phosphorus removal. The ability of bio-P bacteria to produce a high level of PHA during cycles fed with a substrate-rich influent could help to improve the robustness of the process. Indeed, stopping the aerobic period at the time of complete phosphorus removal would assist in maintaining a

certain level of PHA at the end of the treatment. PHA would be accumulated from cycle to cycle and would reach a higher concentration at steady-state. Thus, if an excess of phosphorus resulting from a too low influent acetate/P ratio arise, it will be removed by using the extra PHA stored during previous cycles.

Various models have been developed to represent the behavior of the biological phosphorus removal process. A dynamic model proposed by Smolders *et al.* (1995) for an enriched bio-P culture described the metabolism of bio-P bacteria and can readily be used for simulation. The model describes a metabolism based on glycogen for anaerobic production of reduction equivalents. Poly-β-hydroxybutyrate (PHB) is considered as the only product of acetate and glycogen metabolism and its production ceases when acetate is completely taken up from solution. The slow rate of phosphorus release generally observed after complete acetate uptake is then attributed to anaerobic maintenance reactions only.

In the presence of acetate as the sole carbon source, PHB and poly-β-hydroxyvalerate (PHV) are produced even if acetate is exhausted during the anaerobic period and that a part of the observed slow phosphorus release is associated to this PHA production (Comeau *et al.*, 1987). In the IAWQ model No. 2 presented by Gujer *et al.* (1995), the slow phosphorus release is associated to microorganism decay and assimilation of VFA coming from the fermentation of slowly and rapidly fermentable substrates and then with a PHA production. The rate of anaerobic hydrolysis is considered to be a fraction (10%) of the value under aerobic conditions in the latter model so that phosphorus release may be insignificant. On the other hand, San Pedro *et al.* (1994) and Mino *et al.*, 1995b) observed that after an activated sludge had been well acclimatized to starch, the hydrolysis rate was about the same under anaerobic, aerobic and anoxic conditions.

The model proposed by Smolders *et al.* (1995) can nevertheless be used as presented

for the evaluation of operating mode behavior even though it was built for the specific condition of acetate being used as the sole carbon source and presents differences with other reported results for the behavior of PHA during the anaerobic period.

The objective of this study was to determine if an improved control of the aerobic period duration of a rapid-fill SBR bio-P process could increase the level of PHA reserves and improve process performance and robustness. Lab-scale experiments were performed to characterize the process and for model calibration. Simulations performed with the model proposed by Smolders *et al.* (1995) were used to evaluate the proposed strategy in which the aerobic period is stopped when complete phosphorus accumulation is observed.

6.4 Materials and methods

6.4.1 Lab-scale reactor experiments

Two operating conditions were studied with a lab-scale SBR operated for the bio-P removal process: phosphorus and carbon limiting conditions respectively. These experiments allowed for the evaluation of the PHA storage potential by the examination of the process characteristics. The aerobic period duration was not controlled according to the proposed strategy but was preset for the duration of the experimental period. Filtered COD, filtered o-PO_4 and particulate PHA concentrations were analyzed during these experiments.

6.4.2 Feed

The feed composition is shown in Table 6.1 and was based on that of Smolders *et al.* (1994) except that the phosphorus concentration was set at 20 mg P/l and, depending

on the experimental period, acetate concentrations was set at 300 mg COD/l or at 500 mg COD/l.

Table 6.1 Feed composition used during the operation of the SBR bio-P process

FEED			NUTRIENT SOLUTION	
500	mg COD/l	(0.641 g CH_3COONa/l) or	1.5	g $FeCl_3 \cdot 6\ H_2O$/l
300	mg COD/l	(0.641 g CH_3COONa/l)	0.15	g H_3BO_3/l
28	mg N/l	(0.107 g NH_4Cl/l)	0.03	g $CuSO_4 \cdot 5\ H_2O$/l
20	mg P/l	(0.088 g KH_2PO_4/l)	0.18	g KI/l
0.09	g $MgSO_4 \cdot 7\ H_2O$/l		0.12	g $MnCl_2 \cdot 4\ H_2O$/l
0.036	g KCl/l		0.06	g $Na_2MoO_4 \cdot 2\ H_2O$/l
0.014	g $CaCl_2 \cdot 2\ H_2O$/l		0.12	g $ZnSO_4 \cdot 7\ H_2O$/l
0.001	g yeast extract/l		0.15	g $CoCl_2 \cdot 6\ H_2O$/l
0.30	ml nutrient solution/l		10.0	g EDTA/l

6.4.3 SBR Bio-P process

The bioreactor was a 20 l CHEMAP fermentor (type f0020) with a 15 l working volume. Temperature was controlled at 20 ± 1°C and pH at 7.0 ± 0.1 with HCl and NaOH 1N. During the aerobic period, medium-bubble aeration was used and the dissolved oxygen (D.O.) concentration was maintained between 60% and 80% of saturation by turning air on and off (at 20 °C, D.O. concentration at saturation was evaluated at 9.3 mg/l). D.O., pH and temperature probes were submerged in the mixed liquor and linked to a data acquisition system. The sludge residence time (SRT) and hydraulic residence time (HRT) were maintained at 15 days and 16 hours, respectively.

6.4.4 Cycle description

The SBR cycle lasted 8 hour and was divided into an anaerobic period (3 h) of which the first 3 minutes were used for rapidly filling (without mixing) 50% of the working volume with the influent, an aerobic period (3.5 h) and an anoxic period (0.5 h). Mixed liquor was wasted at the end of the anoxic period for SRT control. The settling period lasted 1 hour and the supernatant was withdrawn during the last 20 minutes of this final period.

6.4.5 Analytical methods

Filtered (0,45 μm) COD, filtered o-PO_4, MLSS and MLVSS were analyzed according to Standard Methods (1995). The percentage of polyphosphates was determined according to the excess acetate addition method proposed by Comeau *et al.* (1991). PHA analysis was adapted from the method proposed by Renner *et al.* (1996). Freeze dried activated sludge was hydrolyzed with 2 ml acidified methanol (5% v/v H_2SO_4) containing 0,2% w/v benzoic acid as internal standard and 2 ml chloroform. Samples were heated at 105 °C during 3 hours and then were washed with 2 ml of distilled water. The external standard was a P(HB-co-HV) co-polymer (Biopol). The chloroform phase was withdrawn and than analyzed by gaseous chromatography (GC). The GC was equipped with a FID detector and a capillary "on-column" column. Injected sample volume was 1 μl. The helium pressure through the 15 m-long HP1 capillary column was 138 kPa. The flame ionization detector was supplied with 520 ml of air/min, 33 ml of H_2/ min and auxiliary helium at 275 kPa. The injection port temperature was 180 °C and the detector temperature was 220 °C. The initial oven temperature was 90 °C. Three ramps of temperature were imposed: 15 °C/min to reach 60 °C, 8 /min to reach 100 °C and 30 °C/min to reach a final temperature of 220 °C . The mean retention times of chloroform, HB, HV and benzoic acid were 1.44, 1.87, 2.44 and 4.18 min, respectively.

6.4.6 Numerical method

All simulations were performed according to the biological phosphorus removal model proposed by Smolders *et al.* (1995) to study the optimization of the bio-P removal process in a rapid-fill SBR. This model considers only the kinetics associated to the bio-P removing bacteria in an enriched culture. The kinetic parameters values are shown in Table 6.2. The stoechiometric parameters " α " are presented in a matrix form (Table 6.3) where the rows correspond to the relevant components and the columns to the reaction stoechiometry. The reaction rates are represented by a vector " r " and the *active biomass specific rates* of the reactions with the vector " q ". The reactions rates can be calculated according to :

$$\mathbf{r} = \alpha \cdot \mathbf{q} \cdot C_x \qquad (1)$$

where C_x is the active biomass concentration.

The simulated uncontrolled cycle lasts 8 hours and is composed of a 3 h anaerobic period, followed by a 3.5 h aerobic period. The last 1.5 h is reserved for the settling and draw periods in which no settling model is used. For this latter period all dynamics are set to 0 for simplification even if in real systems certain reactions continue to proceed . Feeding is instantaneous and the volume of mixed liquor to waste at each cycle for the sludge residence time (SRT) control is evaluated assuming that the reactor effluent is free of particles. The hydraulic retention time used for the simulations is 16 hours and the SRT is 15 days even though the model of Smolders *et al.* (1995) was calibrated for an SRT of 8 days. However, Smolders (1995) showed that the parameters calibration of the model was adequate for SRT ranging from 5 to 20 days. The model was employed as presented without modification of the kinetics and stoechiometric parameters for the comparisons between uncontrolled and

controlled processes by simulation. A study of the model was performed to evaluate its adequacy to fit experimental results.

For the simulations of the controlled processes, the anaerobic period lasts 3 hours and the aerobic period is stopped when phosphorus concentration reaches 0.1 mg P/l or after a period of 3.5 hours. To avoid the effect of a secondary release resulting from the exhaustion of PHB and the maintenance reaction during the aerobic period, this period is also stopped when PHB concentration reaches 0.1 mg PHB/l in the case of an excess of phosphorus (e.g. : for a COD/P ratio of 15 mg COD/mg P). From the end of the aerobic period to the end of the cycle, a settling and draw period is assumed and the components dynamics are set to 0 during this period.

Table 6.2 Kinetics of the anaerobic and aerobic phase of the biological phosphorus removal process (according to Smolders *et al.*, 1995). (ratio of internal storage components : $f_i = C_i/C_x$)

Symbol	Description	Equation	parameter	value	unit
Anaerobic					
q_s	Acetate Uptake	$q_s^{max} \cdot C_s/(C_s+K_s)$	q_s^{max} K_s	0.4 1	C-mol/C-mol·h Cmmol/l
m_{an}	Maintenance		m_{an}	$2.5\ 10^{-3}$	P-mol/C-mol.h
Aerobic					
μ	Biomass Synthesis	$k_x \cdot f_{phb}$	k_x	0.14	C-mol/C-mol·h
q_{pp}	Phosphate Uptake	$k_{pp}.(C_p/(C_p+K_p)).(1-(f_{pp}/f_{pp}^{max}))$	k_{pp} K_p f_{pp}^{max}	0.55 0.1 0.3	P-mol/C-mol·h P-mmol/l P-mol/C-mol
q_{gl}	Glycogen formation	$k_{gl}.(f_{gl}^{max} - f_{gl})$	k_{gl} f_{gl}^{max}	0.8 0.27	C-mol/C-mol·h C-mol/C-mol
m_{aer}	Maintenance		m_{aer}	$4 \cdot 10^{-3}$	C-mol/C-mol.h

Table 6.3 Matrix of reactions rates (r), stoechiometric coefficients (α^{an}, α^{aer}) and active biomass specific rates (q) of the reaction for the model of Smolders *et al.* (1995).

$$r = \begin{pmatrix} r_s \\ r_p \\ r_x \\ r_{phb} \\ r_{pp} \\ r_{gl} \\ r_n \\ r_o \\ r_c \\ r_w \end{pmatrix} \quad \alpha^{an} = \begin{pmatrix} -1 & 0 \\ 0.44 & 1 \\ 0 & 0 \\ 1.33 & 0 \\ -0.44 & -1 \\ -0.5 & 0 \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \\ 0.17 & 0 \\ -0.023 & -1 \end{pmatrix} \quad \alpha^{aer} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ -0.015 & -1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 \\ -1.37 & -0.27 & -1.12 & -1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ -0.2 & 0 & 0 & 0 \\ -0.42 & -0.31 & -0.26 & -1.125 \\ 0.37 & 0.27 & 0.12 & 1 \\ 0.30 & 1.20 & 0.007 & 0.75 \end{pmatrix}$$

$$q^{an} = \begin{pmatrix} q_s \\ m_{an} \end{pmatrix} \qquad q^{aer} = \begin{pmatrix} \mu \\ q_{pp} \\ q_{gl} \\ m_{aer} \end{pmatrix}$$

Variables:		Indices:		
r:	vector of reaction rates	s:	acetate	CH_2O
q:	vector of active biomass specific rate of reaction	p:	phosphate	H_3PO_4
		x:	active biomass	$CH_{2.09}O_{0.54}N_{0.20}P_{0.015}$
α:	vector of stoechiometric parameters	phb:	PHB	$CH_{1.5}O_{0.5}$
		pp:	polyphosphate	HPO_3
Exponents:		gl:	glycogen	$CH_{1.67}O_{0.83}$
		n:	ammonia	NH_4
an:	anaerobic	o:	oxygen	O_2
aer:	aerobic	c:	carbon dioxide	CO_2
		w:	water	H_2O

Three operating conditions without and with control of the aerobic period duration were simulated.

1° treatment of an influent composed with 500 mg COD/l and 20 mg P/l (acetate/P ratio = 25 mg COD/mg P) ;

2° treatment of an influent with an alternating COD concentration (300 mg COD/l and 500 mg COD/l) from cycle to cycle and 20 mg P/l (alternating COD/P ratio of 15 and 25 mg COD/mg P);

3° treatment of an influent composed with 500 mg COD/l and an alternating phosphorus concentration (20 mg P/l and 33mg P/l) from cycle to cycle (alternating COD/P ratio of 15 and 25 mg COD/mg P).

Simulations were performed using MATLAB™ and the mathematical function ODE45 for the numerical resolution of the non-linear differential equations of the model. ODE45 use a variable step 4th and 5th order Runge-Kutta method. Simulated acetate (as COD), phosphorus, PHB, biomass and glycogen dynamics will assist for the analysis of the results.

6.5 Results

6.5.1 Lab-scale reactor experiments

Two operating conditions were tested with a lab-scale reactor : 300 and 500 mg COD/l in the feed. Characteristics of the process during the experimental period for these COD concentrations in the feed are presented in Table 6.4.

The COD, o-PO_4 and PHA behavior for complete cycles under phosphorus (500 mg COD/l and 20 mg P/l) and carbon (300 mg COD/l and 20 mg P/l) limiting conditions is shown in Figure 6.1. During the anaerobic period, consumption of the available rapidly biodegradable COD for both operating conditions was completed in less than 1 hour. It can be observed that with the end of the soluble COD consumption, phosphorus release also stopped and was then taken up. It was assumed that this phosphorus uptake occurring before the end of the anaerobic period was the result of surface aeration even if the presence of dissolved oxygen was not revealed by the D.O. probe. Gaseous nitrogen was blown in the reactor head space during some cycles to limit the surface oxygen transfer. During this latter test, phosphorus release stopped and remained at the same level from the end of the COD consumption to the end of the anaerobic period, confirming the hypothesis of surface aeration. Nevertheless, surface oxygen transfer rate seemed to be limiting for both cycle with 500 or 300 mg COD/l in the feed. In the latter case, the low PHA concentration was limiting the rate of phosphorus accumulation (Monod type kinetics) during the aerobic period. The phosphorus uptake rate observed during the anaerobic period was similar to the one of the aerobic period.

For the cycle with a feed of 500 mg COD/l, it can be observed that a production of PHA followed the end of the COD uptake. At about 2 h, the PHA concentration began to decrease. During the anaerobic period, glycogen concentration decreased during the duration of the anaerobic period (results not shown). Assuming that a PHA production is associated to a reduction in glycogen, the observed PHA dynamics could be the results of competition between bio-P bacteria that consumed PHA under surface aeration conditions and another type of bacteria that produce PHA from glycogen reserves.

Table 6.4 SBR bio-P process characteristics during the experimental periods.

Parameters	Units	Carbon limiting condition	Phosphorus limiting condition
COD_{sol} in	mg/l	304	488
COD_{sol} out	mg/l	61	46
o-PO_4 in	mg P/l	18.9	19.0
o-PO_4 out	mg P/l	10.1	1.1
MLSS	mg/l	2228	4556
MLVSS	mg/l	1568	3093
poly-P (end of aerobic period)	g P/g MLVSS	5.6 %	10.6 %

At 300 mg COD/l in the feed, PHA began to be consumed just after COD uptake was complete but at a lower rate than during the aerobic period. PHA dynamics for this condition was different from the one observed at 500 mg COD/l. In the latter case, a slow PHA production was observed after the end of COD uptake before PHA consumption. The PHA consumption began later in the anaerobic period. A modification in the bacterial population over time and operating conditions could have led to this difference.

PHB consumption associated to polyphosphate synthesis should be less important than for the one associated to growth and glycogen production, so that complete phosphorus accumulation should not modify sharply the aerobic PHB dynamics (Smolders *et al.*,1995). However, at 500 mg COD/l and 20 mg P/l, complete phosphorus accumulation was achieved along with a simultaneous change in the PHB (and PHA) consumption rate and a final concentration of about 50 mg PHA/l. This could results

from the fact that at the corresponding COD/P ratio (25 mg COD/mg P), exhaustion of the PHA content in bio-P bacteria arose just after the time of complete phosphorus accumulation. The observed residual PHA concentration would not be available for bio-P bacteria and could have been stored by a competing microorganism of the type G-bacteria (Cech *et al.*, 1993, Satoh *et al.*, 1994, Mino *et al.*, 1995a) that produce PHA from acetate and glycogen without energy coming from polyphosphate reserves.

Phosphorus uptake was incomplete even if a residual PHA concentration was also observed at 300 mg COD/l in the feed. This result support the previous hypothesis that the residual PHA was not available for bio-P bacteria.

According to the latter assumption, it would be difficult to increase the level of PHA at 500 mg COD/l and 20 mg P/l (25 mg COD/mg P) if a control of the aerobic period duration is implemented since it is a limiting condition.

Results obtained at the beginning of the experimental period were even so showing a potential for the increase of PHA concentration at steady-state. During this period, the reactor was aslo fed with 500 mg COD/l and 20 mg P/l. Phosphorus was already completely taken up into the first 90 minutes of the aerobic period but PHA was consumed until the end of the aerobic period after this event. PHA accumulation was not possible because preset aerobic period duration was too long but all PHA seemed to be available for bio-P bacteria at that time. This latter experiment demonstrated that residual PHA could have been stored for a shorter aerobic period duration. It seems that evolution of competition for substrate has reduced the yield of PHA production by bio-P bacteria. A COD/P ratio higher than 25 mg COD/mg P in the feed and the control of the aerobic period duration for optimal PHA use would allow the accumulation of PHA and the improvement of the process.

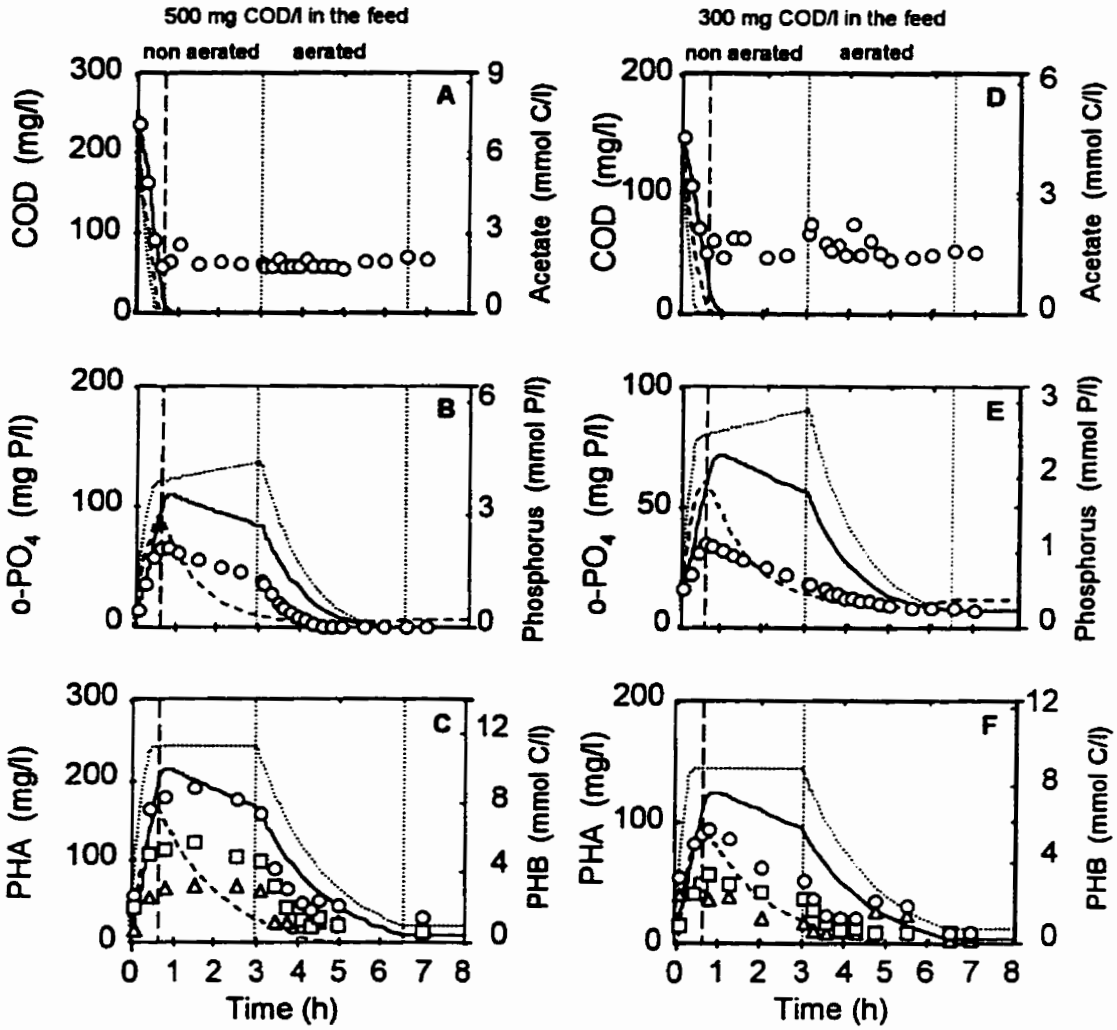


Figure 6.1 Lab-scale reactor experiments of an SBR bio-P process. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 0.5 h anoxic, 1 h settle and draw. Influent at 500 mg COD/l : A) COD, B) o-PO_4, C) PHA(o), PHB (□), PHV(Δ). Influent at 300 mg COD/l : D) COD, E) o-PO_4, F) PHA (o), PHB (□), PHV (Δ). Simulation with the model of Smolders et al., (1995) : complet anaerobic conditions during the first 3h (·····); simultaneous anaerobic and aerobic dynamics during the first 3h (-----); limited aeration (surface aeration) during the first 3 h (——).

6.5.2 Model study

Minor modification of the model of Smolders *et al.* (1995) was performed to fit results obtained experimentally with an influent containing 20 mg P/l and 500 or 300 mg COD (as acetate)/l for the particular case of surface aeration conditions during the anaerobic period.

Simulated process behavior under completely anaerobic conditions during the first 3 hours is represented by the dotted line in Figure 6.1. The rates of simulated acetate uptake and phosphorus release are faster than the experimental ones and a slow phosphorus release can be observed when acetate is completely taken up. According to Smolders *et al.* (1995), this slow release is only associated to anaerobic maintenance reactions. Produced PHB and released phosphorus reach a higher level than during experimentation. Competition for substrate and surface aeration could have limited the extent of these reactions in full-scale process.

The effect of the combined anaerobic and aerobic metabolisms proposed by Smolders *et al.* (1995) during the first 3 hours of the cycle on the simulated process behavior is represented by the dashed line in Figure 6.1. For this simulation, it is assumed that anaerobic and aerobic dynamics were proceeding fully and simultaneously without dissolved oxygen limitation for the aerobic kinetics. Although phosphorus is taken up from the time of complete COD removal as in the lab-scale reactor, the phosphorus uptake rate is much faster in this simulation than during the experiments. This behavior is similar for PHB. The magnitude of aerobic dynamics during the non aerated period but with oxygen diffusion from the air above the completely mixed bioreactor should be limited.

The effect of surface aeration (limited oxygen transfer) during the anaerobic period on the behavior of the simulated process is represented by the full line in Figure 6.1. In

this case, an oxygen saturation function (Monod function) has been added to the model, considering that both anaerobic and aerobic dynamics are proceeding during the anaerobic period.

The oxygen saturation coefficient proposed by Smolders et al. (1995) (K_{O2} = 0.001 mg O_2/l) was too small and with a surface K_La of 6.8 h^{-1} as during the lab-scale experiments, anaerobic dynamics was canceled. The oxygen saturation coefficient was replaced by the one proposed in the IAWQ model No. 2 (K_{O2}=0.2 mg O_2/l) (Gujer *et al.*, 1995).

Although released phosphorus reaches a higher level than for the experimental results, dynamics behavior is similar to the one observed for the experiments but for a surface K_La of 0.0198 h^{-1}. This value was much lower than the one measured in the reactor which was 6.8 h^{-1}. For the cycle fed with 300 mg COD/l (Fig. 6.1D to 6.1F), released phosphorus and produced PHA are higher than for experimental results. Phosphorus dynamics is also different. It can be concluded that the model of Smolders cannot represents adequately the process behavior in surface aeration conditions during the non aerated period and needs to consider the aerobic metabolism during this period since it influences the phosphorus removal behavior and bacterial competition.

In the presence of acetate, a biomass submitted to completely aerated conditions release phosphorus as during the anaerobic period but at a lower extent (Gerber *et al.*, 1987; Larose *et al.*, 1997). The oxygen saturation constant proposed in the model of Smolders *et al.* (1995) is very low (K_{O2} = 0.001 g/l), so that the presence of a very low dissolved oxygen concentration stops the anaerobic metabolism.

The level of PHB reached during the anaerobic period corresponds well to the level of PHA obtained during the experiments at 500 mg COD/l in the feed. However, PHA

present in the biomass was composed of both PHB and PHV even if acetate was the sole carbon source in the feed.

6.5.3 Alternating COD concentration in the feed.

Preliminary investigations on the performance behavior of the process for an alternating COD concentration from cycle to cycle (300 and 500 mg COD/l) and 20 mg P/l in the feed were performed during the experimental period. The new operating condition was implemented after reaching steady-state for an operation with 500 mg COD/l and 20 mg P/. During the first cycles, the phosphorus concentration was lower than 1 mg P/l. After about 10 days, phosphorus removal efficiency began to deteriorate and the effluent phosphorus concentration ranged between 1 and 5 mg P/l for the last 20 days of this investigation. During these cycles, PHA were completely metabolized during the aerobic period. Operating conditions could have favored bio-P bacteria, so that measured PHA were all available for them or G-bacteria had to metabolized all their PHA reserves. In spite of the incomplete phosphorus removal, it was interesting to observe that the efficiency of the cycle with the lower COD/P ratio was improved by this operating mode. However, further experiments are needed to interpret the observed process behavior.

6.5.4 Simulations

6.5.4.1 Case 1: COD/P ratio = 25 mg COD/mg P - Treatment of an influent with 500 mg COD/l and 20 mg P/l without and with control

The effect of the implementation of the control strategy on the steady-state performance of the process for a feed with 500 mg COD/l and 20 mg P/l is shown in Figure 6.2. During the anaerobic period, acetate is removed in about 30 minutes (Fig.

6.2A and 6.2F). It can be observed that during the last 2.5 hours of the anaerobic period, in both cases (Fig. 6.2B and 6.2G), phosphorus was released into solution but at a lower rate than in the presence of acetate. According to the model of Smolders *et* al., (1995), this phosphorus release is not associated to a PHB production and results in excess that will have to be removed subsequently.

Aerobic phosphorus uptake (Fig. 6.2B) is achieved before the end of the aerobic period for the uncontrolled process. PHB is used until the end of the aerobic period for growth and glycogen production. A residual PHB concentration is still present at the time of complete phosphorus accumulation (Fig. 6.2C). This residual PHB could be accumulated, in principle, from cycle to cycle by stopping the aerobic period at the time of complete phosphorus removal, limiting its consumption for growth and glycogen production.

The components behavior resulting from the implementation of the control strategy is shown in Figures 6.2F to 6.2J. In this case, the aerobic period is stopped when phosphorus concentration reaches 0.1 mg P/l. As predicted previously, the PHB concentration (Fig. 6.2H) reaches a higher steady-state level than the one obtained for the uncontrolled process (Fig. 6.2C). Since PHB concentration is high, phosphorus accumulation is much faster than for the process without control (zero order kinetics). It can be observed from Figure 6.2J that glycogen is at a lower value than for the uncontrolled process. This results from the control operated on the aerobic period duration which limits the time allowed for the glycogen synthesis from the PHB reserves. Assuming that, as proposed in the model of Smolders *et al.* (1995), the glycogen dynamics is linked to the metabolism of bio-P bacteria, care would have to be taken in a real process to ensure that glycogen production is high enough to give, during the subsequent anaerobic period, sufficient reductive power to produce the PHB reserves. This requirement could become a new criterion for the control strategy in real processes.

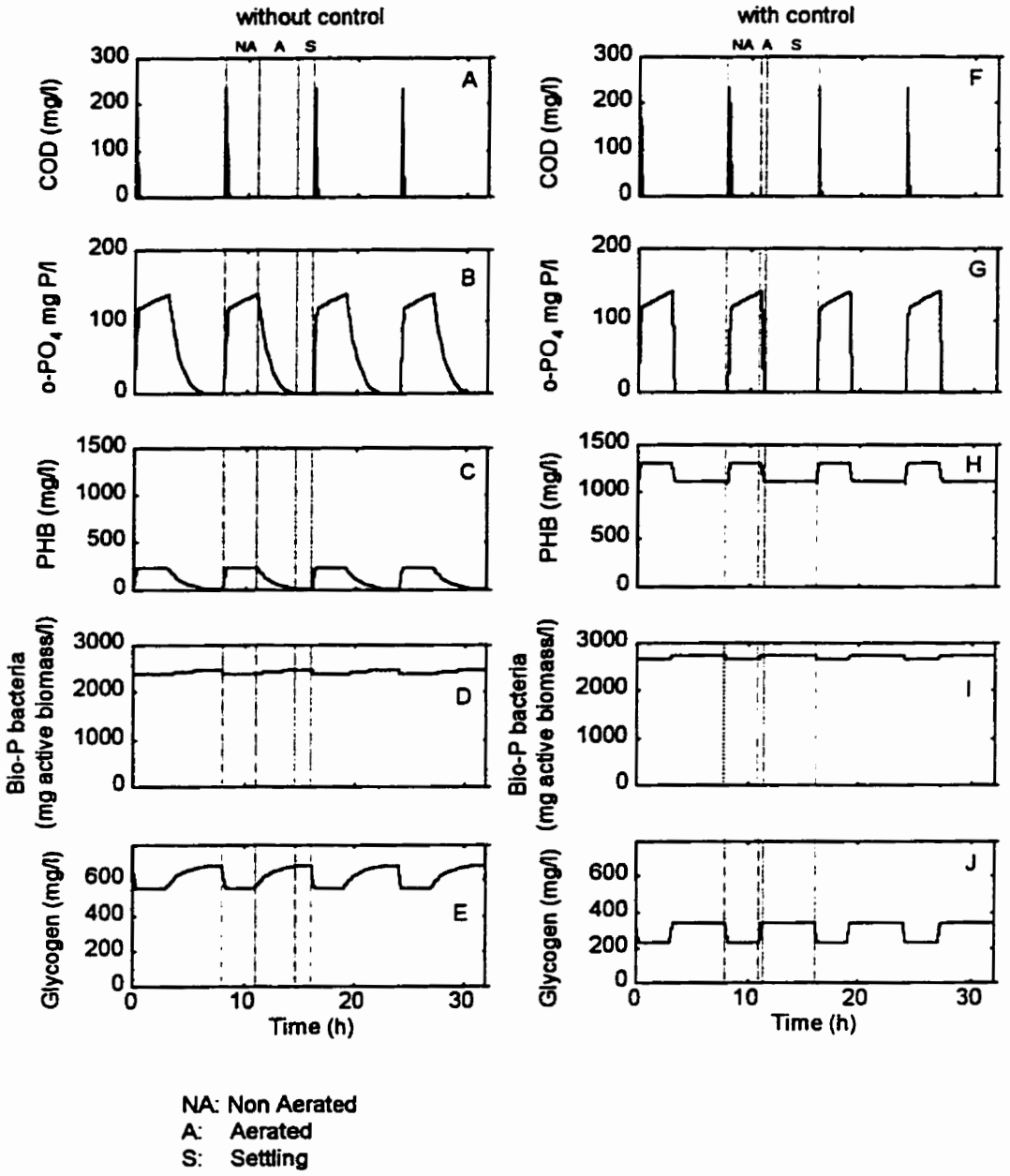


Figure 6.2 Simulation of the SBR bio-P process fed with 500 mg COD/l and 20 mg P/l. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 1.5 h settle and draw. Uncontrolled: A) acetate, B) phosphorus, C) PHB, D) biomass, E) glycogen. Controlled: F) acetate, G) phosphorus, H) PHB, I) biomass, J) glycogen. Control criteria : end of aerobic period at 0.1 mg P/l.

At steady-state, the PHB/biomass ratio of the controlled process is about 45 %. This value may be considered quite high for bio-P removal bacteria but is lower than the level of PHB found in certain bacteria used for commercial bio-polymer production (Anderson and Dawes, 1990). Thus, such a PHB level could, in principle, be reached.

With this high PHB concentration in the controlled process, it can be hypothesized that for an event like a lower COD/P ratio in the feed for one or more cycles, the phosphorus removal efficiency would not deteriorate immediately. It has been verified with additional simulations reaching steady-state conditions with this controlled process, that lowering the COD concentration in the feed to 300 mg COD/l resulted in complete phosphorus removal for up to 48 cycles. Stored PHB provides a reserve that ensure phosphorus removal efficiency as long as its concentration remains sufficiently high.

6.5.4.2 Case 2: alternating COD/P ration between 15 and 25 mg COD/mg P - Treatment of an influent with an alternating COD concentration (300 mg COD/l and 500 mg COD/l) from cycle to cycle, and 20 mg P/l without and with control

The effect of the implemented control strategy on the steady-state performance of the process submitted to an alternating COD concentration in the feed (300 mg COD/l and 500 mg COD/l) from cycle to cycle is shown in Figure 6.3. It can be seen that incomplete phosphorus removal is observed for each cycles of the uncontrolled process (Fig. 6.3B), but better performances are obtained for the cycles fed with 500 mg COD/l than for the one with 300 mg COD/l. This loss in efficiency observed for the cycle at 500 mg COD/l is caused by the alternate occurrence of the cycle fed with 300 mg COD/l. Indeed, as phosphorus is not completely removed during the cycles at 300 mg COD/l, the residual phosphorus concentration at the end of the cycle constitute an excess that the amount of PHB produced at 500 mg COD/l cannot help to remove

completely. Incomplete PHB consumption is observed for both conditions. This results from the preset aerobic period duration (3.5 h) but prolonging this period does not lead to complete phosphorus removal.

The effect of the implementation of the control strategy on the phosphorus removal efficiency is shown in Figures 6.3F to 6.3J. Good performance is observed for every cycle, independently of the COD concentration in the feed. By minimizing the PHB consumption during the 500 mg COD/l cycles, a part of the stored PHB can be used during the cycles fed with 300 mg COD/l for complete phosphorus removal even if the COD/P ratio is not adequate at this latter concentration. During the start up of this mode of operation, each time the cycle at 500 mg COD/l is occurring, a small amount of residual PHB is accumulated. A higher steady-state concentration is reached after many cycles. At steady-state, there is an equilibrium between PHA, phosphorus, biomass and glycogen that allows to keep a high PHB concentration form cycle to cycle even if there is a negative PHB balance for the cycle at 300 mg COD/l. This control strategy could result, in principle, in an improved performance of the bio-P removal process and a reduction in reactor volume and cycle duration could be expected.

6.5.4.3 Case 3: alternating COD/P ration between 15 and 25 mg COD/mg P - Treatment of an influent composed with 500 mg COD/l and an alternating phosphorus concentration (20 mg P/l and 33 mg P/l) from cycle to cycle without and with control.

The effect of the implemented control strategy on the steady-state performance of a process submitted to an alternating phosphorus concentration (20 and 33 mg P/l) in the feed from cycle to cycle is shown in Figure 6.4. The COD concentration in the feed is set at 500 mg/l.

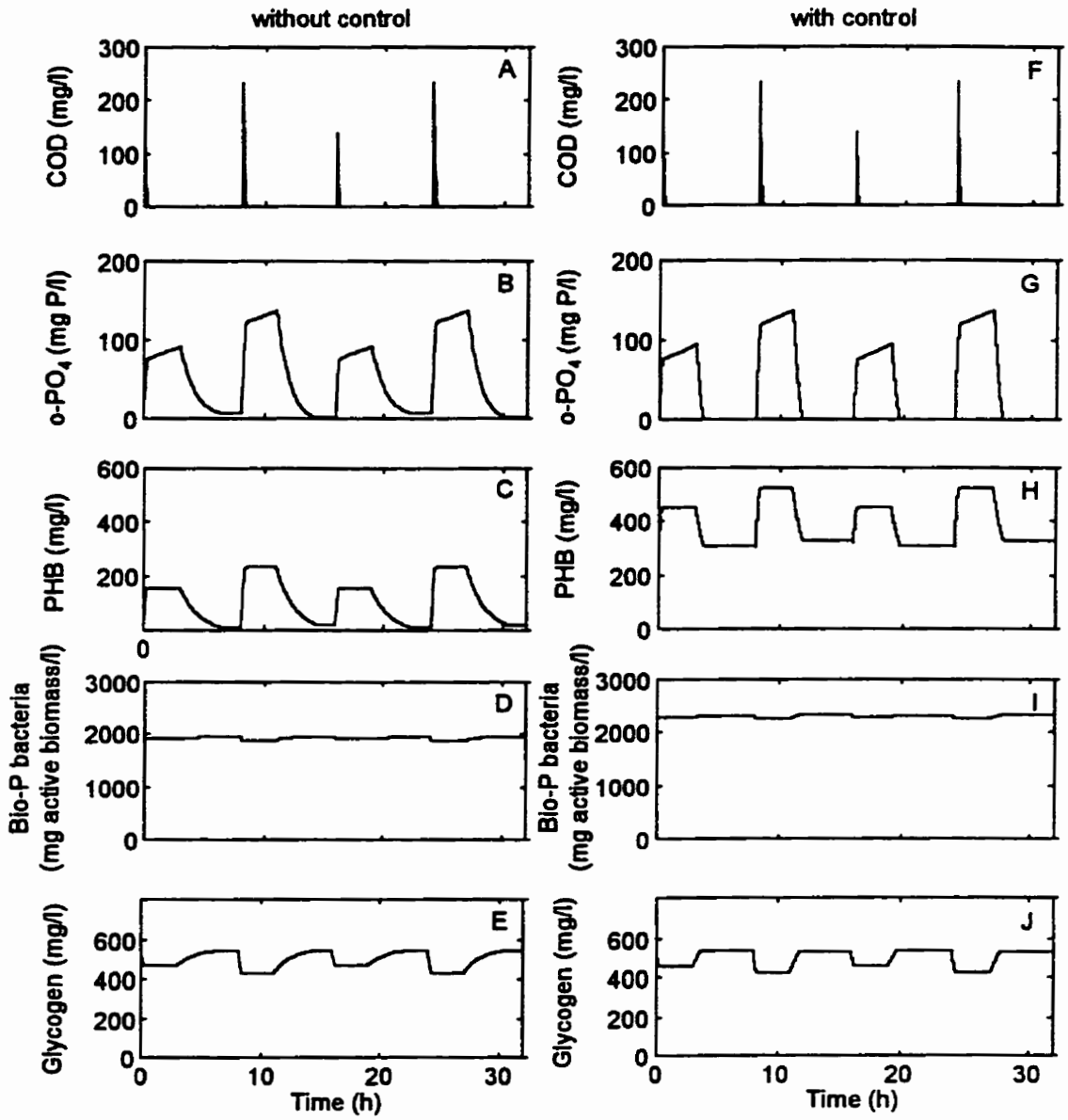


Figure 6.3 Simulation of the SBR bio-P process fed with 20 mg P/l and alternatively 500 and 300 mg COD/l from cycle to cycle. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 1.5 h settle and draw. Uncontrolled: A) acetate, B) phosphorus, C) PHB, D) biomass, E) glycogen. Controlled: F) acetate, G) phosphorus, H) PHB, I) biomass, J) glycogen. Control criteria : end of aerobic period at 0.1 mg P/l.

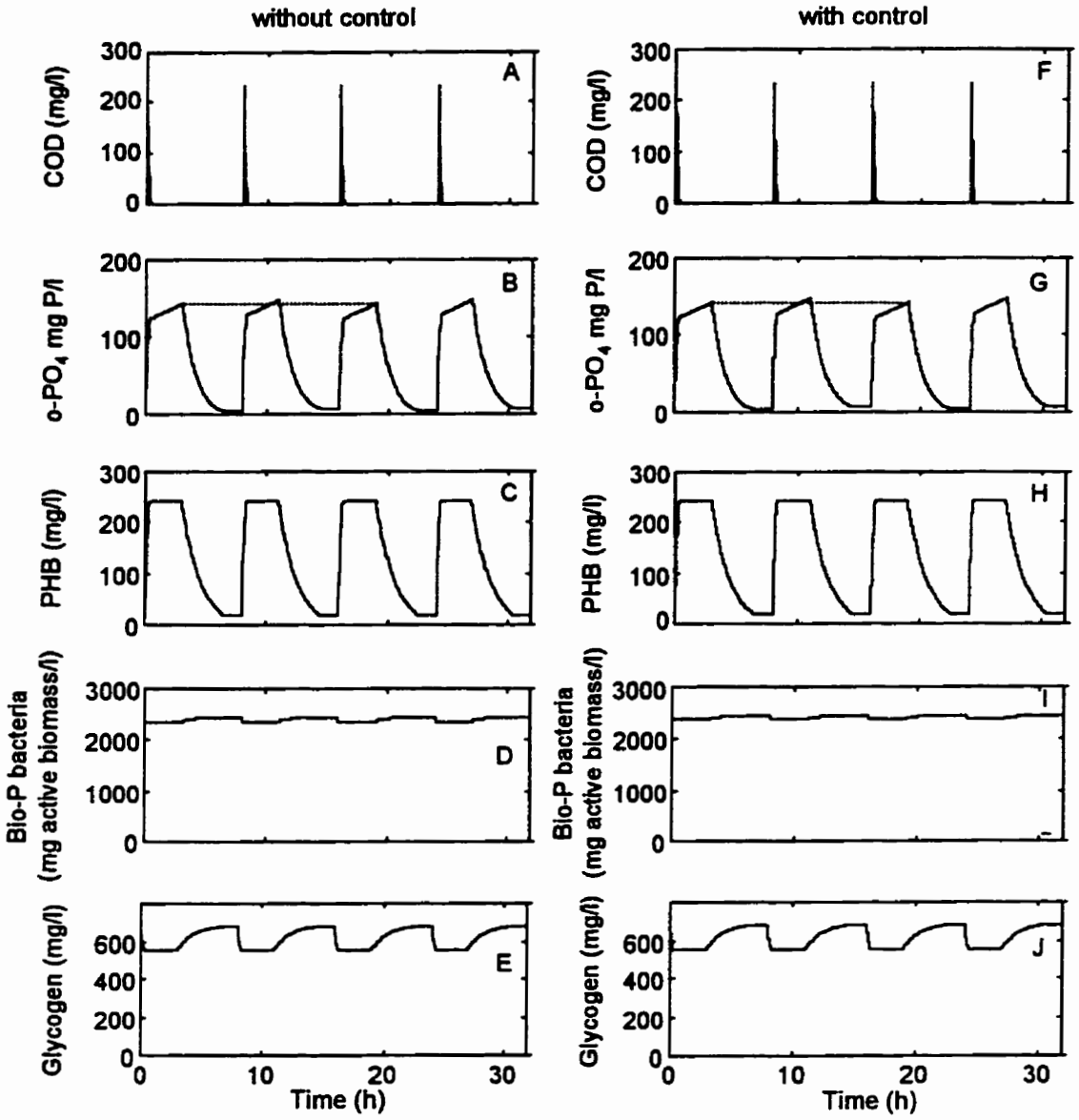


Figure 6.4 Simulation of the SBR bio-P process fed with 500 mg COD/l and alternatively 20 and 33 mg P/l from cycle to cycle. Cycle : 3 h anaerobic, 3.5 h aerobic, 1.5 h settle and draw. Uncontrolled: A) acetate, B) phosphorus, C) PHB, D) biomass, E) glycogen. Controlled: F) acetate, G) phosphorus, H) PHB, I) biomass, J) glycogen. Control criteria : end of aerobic period at 0.1 mg P/l.

None of the cycles allows for the complete uptake of phosphorus in the uncontrolled process. For the reason cited before, PHB is not completely used at the end of the aerobic period (3.5 h). The addition of 33 mg P/l results in higher excess of phosphorus remaining at the end of the cycle. A too high phosphorus concentration have to be removed in the following cycle at 20 mg P/l. This operating condition is similar to the case of an alternating COD concentration between 300 and 500 mg/l without control. The residual phosphorus concentration at the end of the cycle coming from the cycles with 33 mg P/l in the feed, led to a deterioration of the process performance.

The implementation of the control strategy on this operating condition does not improve very much the process performance. This case and the preceding one have a COD/P ratio of 15 mg COD/mg P. However, for 500 mg COD/l and 33 mg P/l, the residual phosphorus concentration reached at the end of the cycle at 33 mg P/l is higher than with 300 mg COD/l and 20 mg P/l, assuming that a minimum of 25 mg COD is required to remove 1 mg P. Implementation of the control strategy does not improve phosphorus removal in all cases. A limit exists in which the excess of phosphorus is too high to be removed completely and to allow for PHA accumulation.

6.6 Discussion

The performance of the uncontrolled and controlled process for the three cases studied in term of 16 hours period (2 cycles) phosphorus removal capacity and mean PHB content of the biomass is summarized in Figure 6.5. The same amount of phosphorus is removed in case 1. The control strategy improved the phosphorus removal efficiency in case 2 and resulted in a very small increase in case 3. In cases 1 and 2, the control strategy allows for a higher PHA concentration and a faster phosphorus accumulation

rate. From this latter consideration, it seems that a reduction of the reactor size could be possible for the biotreatment of the same daily wastewater flow rate. One would also expect to be able to remove a higher amount of phosphorus if the cycle length is shortened.

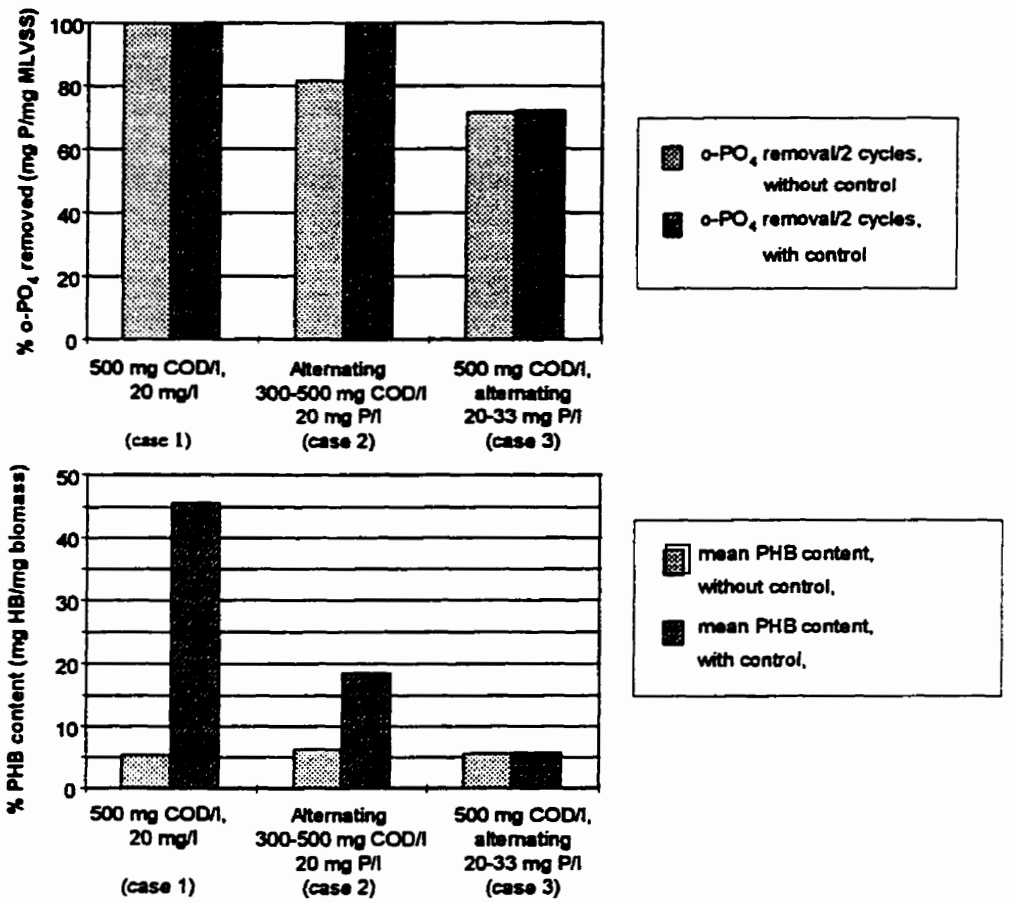


Figure 6.5 Performance of the control strategy on phosphorus removal efficiency and mean PHB content on a 16 hours basis (2 cycles). A) phosphorus removal capacity for processes without and with control of the aerobic period duration, B) mean PHB content of the biomass for processes without and with control of the aerobic period duration.

Simulation with a 4.5 hours cycle duration (3 h anaerobic period, time necessary to accumulate completely phosphorus for the aerobic period, rest of time for the settle and draw period) was performed to verify the application of the control strategy for reduced cycle duration. SRT was maintained at 15 days and HRT was 9 hours. At 500 mg COD/l and 20 mg P/l, phosphorus removal is complete for this cycle and daily phosphorus removal is 5.3 times higher than for a 8 hour cycle. However, since more daily COD is also fed to the reactor, the combined biomass and PHB concentrations reach 6 g/l; physical operating problems (oxygen transfer for example) could occur with this condition.

It is possible that no benefit is really obtained from prolonging the anaerobic period duration for a time longer than the one necessary to completely take up acetate. In this case, an other control strategy could be applied to optimize the anaerobic period duration. By controlling the anaerobic period duration to the time needed for complete acetate uptake, the cycle length would be reduced again and the process performance improved. The reaction time would be again shortened and the daily phosphorus removal increased

Implementation of the control strategy on real application will certainly not lead to the performance observed with simulations. Reactions associated to aerobic conditions will continue to proceed after the stop of aeration provided that dissolved oxygen and nitrate are still present for a certain time. Microbial metabolism is also active during the settle period. However, improved performance are expected from the control of the aerobic period duration.

6.7 Conclusions

The aim of this study was to show that better control of the reaction periods duration of a rapid-fill SBR bio-P process could improve process robustness and performance.

Lab-scale experiments, without the implementation of the proposed control strategy, showed that for COD/P ratio of 25 mg COD/mg P, phosphorus was completely accumulated during the aerobic period. PHA was not completely metabolized but the residual concentration could be non available for bio-P bacteria since it was not consumed after the uptake of phosphorus. Competition between bio-P and G bacteria could have led to this result. For this condition, accumulation of PHA by bio-P bacteria seems to be difficult. However, improved performance should be possible provided that competition for substrate in not too important. Further experiments at a higher COD/P ratio will have to be performed to ascertain that PHA storage is possible.

Study of the model of Smolders *et al.* (1995) has demonstrated that it cannot well represents the process behavior under surface aeration. The oxygen saturation coefficient should be risen and the surface Kla must be very low. Released phosphorus and PHB production reached a higher level for simulation of the anaerobic period. Competition for substrate under surface aeration conditions could have reduced the extent of phosphorus release and PHA production during the experiments.

Preliminary investigation on an alternating COD concentration in the feed (300 and 500 mg COD/l) showed that process performance has deteriorated after 10 days, but phosphorus removal efficiency of the cycles fed with 300 mg COD/l was improved

Three operating conditions were simulated, without and with the implementation of the proposed control strategy.

Implementation of the control strategy for the treatment of an influent having a COD/P ratio of 25 mg COD/mg P led to reach a higher PHB level at steady-state. The same amount of phosphorus is removed in uncontrolled and controlled processes but the accumulation is performed at a higher rate for the controlled process. The high PHB concentration could allow to prevent a lost of good phosphorus removal efficiency in the case of a fall in the COD concentration for up to 48 cycles.

The application of a control strategy based on the optimal consumption of PHB allowed for the complete removal of phosphorus for a process characterized by an alternating COD concentration (300 and 500 mg COD/l) from cycle to cycle.

For case 3 the alternation of COD/P ratio is similar as for case 2. More PHB than the available amount is invoiced to complete phosphorus accumulation. Complete phosphorus removal is not possible and daily phosphorus removal is not really improved.

Further simulations will lean on the behavior of the controlled process according to different sludge residence time and on the determination of the limits of applicability.

The stop of the aeration will not result instantaneously in the stop of all the biological reactions so that, in a real process, the performance will not be as good as for simulations. However, improved performance are expected from the implementation of the control strategy.

6.8 Acknowledgments

The authors thank Denis Bouchard and Jérôme Couderc for technical and experimental assistance.

6.9 References

ANDERSON, A.J.and DAWES, E.A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic rôle, and industrial uses of bacterial polyhydrosyalcanoates. Microbiological Reviews, 54 (4), 450-472.

CECH, J.S. and HARTMAN, P. (1993). Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems. Wat. Res., 27 (7), 1219-1225.

COMEAU, Y., OLDHAM, W.K. and HALL, K.J. (1987). Dynamics of carbon reserves in biological dephosphatation of wastewater. Advances in Water Pollution Control, IAWPRC Int. Conf. In Rome on : Biological phosphate removal from wastewaters, 39-55.

COMEAU, Y. (1990). La déphosphatation biologique - procédés et conception. Sciences et techniques de l'eau, 23 (2), 199-219.

COMEAU, Y., HALL, K.J. and OLDHAM, W.K. (1991). Indirect polyphosphate quantification in activated sludge. Wat. Res. J. Canada, 25 (2), 161-174.

COMEAU, Y., LAMARRE, D., ROBERGE, F., PERRIER, M., DESJARDINS, G., HADE, C. and MAYER, R. (1996). Biological nutrient removal from a phosphorus-rich pre-fermented industrial wastewater. Wat. Sci. Tech.,. 34 (1-2), 169-177.

GERBER, A., DE VILLIERS, R.., MOSTERT, E.S. and VAN RIET, C.J.J. (1987). The phenomenon of simultaneous phosphate uptake and release,, and its importance in biological nutrient removal. In : Advances in Water Pollution Control : biological phosphate removal from wastewaters, Edited by Ramadori, R., Pergamon Press, 124-134.

GUJER, W., HENZE, M., MINO, T., MATSUO, T., WENTZEL, M.C. and MARAIS, G.v.R. 1995. The activated sludge model no.2 : biological phosphorus removal. Wat. Sci. Tech., 31 (2), 1-11.

LAROSE, A., PERRIER, M. and COMEAU, Y. 1997. Respirometric control of the anaerobic period duration of an SBR bio-P process. Wat. Sci. Tech., 36 (5), 293-300.

MINO, T., LIU, W., KURISU, F. and MATSUO, T. (1995a). Modelling glycogen storage and denitrification capability of microorganisms in enhanced biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech. 31 (2), 25-34.

MINO. T., SAN PEDRO, D.C. and MATSUO, T. (1995b). Estimation of the rate of slowly biodegradable COD (sbCOD) hydrolysis under anaerobic, anoxic and aerobic conditions by experiments using starch as model substrate. Wat. Sci. Tech., 31 (2), 95-103.

RENNER, G. and BRAUNEGG, G. (1996). Production of short side chain polyhydroxyalcanoates by various bacteria from the rRNA superfamilly III, Appl. Microbiol. and Biotechnol., 46(3), 268-272..

SAN PEDRO, D.C., MINO, T. and MATSUO, T. (1994). Evaluation of the rate of hydrolysis of slowly biodegradable COD (sbCOD) using starch as substrate under anaerobic, anoxic and aerobic conditions. Wat. Sci. Tech., 31 (11), 191-199.

SATOH, H., MINO, T. and MATSUO, T. (1994). Deterioration of enhanced biological phosphorus removal by the domination of microorganisms without polyphosphate accumulation. Wat. Sci. Tech., 30 (6), 203-211.

SMOLDERS, G.J.F., VAN DER MEIJ, J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1994). Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process : stoichiometry and pH influence. Biotechnol. & Bioeng., 43, 461-470.

SMOLDERS, G.J.F. (1995). A metabolic model of the biological phosphorus removal stoichiometry, kinetics and dynamics behaviour. Ph.D. thesis, Department of biochemical engineering, University of technology, Delft, The Netherlands.

SMOLDERS, G.J.F., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. and HEIJNEN, J.J. (1995). A metabolic model for the biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech., 31 (2), 79-93.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1995). 19th ed, American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington DC, USA.

THORNBERG, D.E., NIELSEN, M.K. and ANDERSEN, K.L. (1993). Nutrient removal : on-line measurements and control strategies. Wat. Sci. Tech., 28 (11-12), 549-560.

VANROLLEGHEM, P. and VAN DAELE, M. (1994). Optimal Experimental design for strucured characterization of biodegradation models: on-line implementation in a respirographic biosensor. Wat. Sci. Tech., 30 (4), 243-253.

VANROLLEGHEM, P. (1994). On-Line Modelling of Activated Sludge Processes : Development of an Adaptative Sensor. Ph.D. thesis, BIOMATH department of applied mathematics, biometrics and process control, University of Gent, Gent, Belgium.

VANROLLEGHEM, P. and COEN, F. (1995). Optimal design of in-sensor-experiments for on-line modelling of nitrogen removal process. Wat. Sci. Tech., 31 (2), 149-160.

CONCLUSION

La déphosphatation biologique est un mode de traitement des eaux usées permettant d'éliminer le phosphore par l'intermédiaire de bactéries capables d'emmagasiner ce polluant sous forme de polyphosphates intracellulaires. Ce procédé peut être mis en œuvre à l'aide d'un réacteur biologique séquentiel dont le mode d'opération offre une très grande versatilité.

Le manque de capteurs adéquats qui pourraient être utilisés pour le suivi en ligne et le contrôle des procédés biologiques constitue un problème toujours actuel. Toutefois, le développement de techniques respirométriques offre de plus en plus de possibilités.

Par ailleurs, la possession de nouveaux capteurs et la connaissance du métabolisme inhérent au procédé de déphosphatation biologique permettent de développer de nouvelles stratégies d'opération visant à améliorer les performances et la robustesse de ce procédé.

Afin de répondre à ces différents problèmes, les objectifs de ce projet étaient de :

- Développer une méthode respirométrique pour le suivi " en ligne " de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel.

- Évaluer le potentiel d'utilisation des mesures du taux de consommation en oxygène dissous disponibles au cours de la période aérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel pour le contrôle en ligne de la durée de la période aérobie.

- Étudier les performances d'une stratégie d'optimisation du procédé de déphosphatation biologique en RBS basée sur la limitation de la consommation des PHA en période aérobie.

Un réacteur biologique séquentiel a été opéré en conditions de phosphore (25 mg DCO/mg P) et de carbone (15 mg DCO/mg P) limitants. L'échantillonnage de cycles complets d'opération a permis de caractériser la dynamique de la DCO, du phosphore, de l'azote ammoniacal , des nitrates, des PHA du glycogène et de l'oxygène dissous et de répondre aux objectifs fixés dans ce projet.

Au chapitre 4, une méthode respirométrique pour le suivi de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique a été développée. Au cours de ces travaux, il a été démontré que le suivi de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en RBS était réalisable par méthode respirométrique.

La méthode consiste à recueillir des échantillons de liqueur mixte au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique et de les soumettre à des conditions aérées. Une série de respirogrammes peuvent alors être générés.

Lorsqu'une source de carbone rapidement biodégradable est présente dans l'échantillon, une chute dans le taux de respiration est observée au moment où le captage de la DCO dans cet échantillon est complétée. En suivant ainsi la réponse respirométrique d'une série d'échantillons pris à intervalle régulier au cours de la période anaérobie, il est possible de repérer le moment où il n'y a plus de DCO rapidement biodégradable dans le réacteur.

Les résultats des tests de respirométrie sont reproductibles de cycle en cycle pour une alimentation de composition constante. Le patron observé suit également les variations de la concentration en DCO dans l'alimentation.

Au chapitre 5, l'effet de conditions limitantes en phosphore, en carbone et en durée de la période anaérobie sur la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous a été caractérisé.

Un changement de pente est observé lorsque l'accumulation de phosphore cesse dans des conditions de limitation en phosphore ou en carbone (PHA) au cours de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique.

Un chute brusque survient dans le profil du taux de consommation en oxygène dissous lorsque la consommation de la DCO filtrée cesse lors d'une limitation de la durée de la période anaérobie (cas d'une fuite de carbone de la période anaérobie à la période aérobie).

Au cours de la période expérimentale, différents taux de nitrification ont été observés, ceux-ci étant plus rapides lors de l'opération à 300 mg DCO/l. Le changement d'alimentation et l'évolution de la population bactérienne ont probablement favorisé la croissance des bactéries nitrifiantes. Il est donc possible de rencontrer des problèmes dans l'interprétation des résultats dans le cas où il y a accumulation de phosphore et nitrification simultanément. Une étude préliminaire des caractéristiques de l'affluent à traiter et du procédé devrait être effectuée afin de régler les consignes de contrôle (de repérage).

Au cours de la période expérimentale, il semble qu'il y ait eu compétition pour le substrat entre les bactéries déphosphatantes et un autre type de bactéries (les bactéries G par exemple) capable de capter le carbone en période anaérobie et de l'emmagasiner sous forme de PHA sans faire intervenir les chaînes de polyphosphates. Le ralentissement de la dynamique de consommation des PHA lorsque le phosphore cesse d'être accumulé en période aérobie (en condition de limitation de phosphore ou de

carbone) et la présence d'une concentration résiduelle de PHA, même en condition de limitation en carbone, appuient cette hypothèse.

Le glycogène n'a pas démontré une dynamique consistante avec les résultats rapportés dans la littérature. Bien que plusieurs éléments soient manquants pour interpréter cette dynamique, il est possible d'attribuer le comportement dynamique du glycogène à la présence de différents types de microorganismes (bactéries déphosphatantes, bactéries G).

Les changements observés dans la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous correspondent à la fin de réactions spécifiques (arrêt de l'accumulation du phosphore et de la nitrification), Le repérage et l'interprétation automatisé de ces changements permettraient d'effectuer un contrôle de la durée de la période aérobie. Un réduction de l'énergie fournie pour l'aération et l'accumulation d'une plus grande réserve de PHA pourraient en résulter.

Afin d'évaluer les performances d'une nouvelle stratégie d'opération basée sur le contrôle de la durée de la période aérobie du procédé de déphosphatation biologique, des essais en laboratoire et des simulations à l'aide du modèle de Smolders *et al.*, (1995) ont été réalisés.

Les résultats expérimentaux obtenus à partir de l'opération du RBS pour une durée de période aérobie fixée à 3.5 heures ont montré que pour un rapport DCO/P de 25 mg/mg, le phosphore pouvait être complètement accumulé, malgré une compétition entre les différents microorganismes pour le substrat. Toutefois, ce rapport semble être un minimum dans ces conditions et la production de PHA par les bactéries déphosphatantes s'est révélée juste suffisante pour enlever tout le phosphore. L'arrêt de la période aérobie au moment où le phosphore a été complètement accumulé ne permettrait pas de limiter la consommation de PHA et d'en accumuler une partie

puisque ce composé ne se trouve pas en excès. En réduisant la compétition entre les microorganismes (i.e. en limitant la croissance des bactéries G par exemple), une certaine quantité de PHA pourraient être conservée à la fin de la période aérobie.

L'étude du modèle de Smolders *et al.* (1995) a démontré qu'il ne pouvait représenter adéquatement la dynamique obtenue pour le procédé à l'échelle laboratoire sous des conditions d'aération de surface au cours de la période anaérobie. Le coefficient de saturation de l'oxygène dissous doit être plus élevé que celui proposé dans le modèle original et le K_La de surface doit être beaucoup plus faible que celui mesuré dans le réacteur avec de l'eau. Dans les simulations, les concentrations de phosphore relargué et de PHB produits sont plus élevées que lors de l'opération du procédé. La compétition pour le substrat et la présence de l'aération de surface ont contribué à la réduction du niveau apparent de relargage.

Trois conditions d'opération du procédé de déphosphatation biologique ont été évaluées à l'aide de simulations.

L'application de la stratégie de contrôle pour le traitement d'un affluent ayant un rapport de 25 mg DCO /mg P (condition de limitation en phosphore) permet d'augmenter la concentration en PHA et d'accélérer le taux d'accumulation du phosphore en période aérobie. Cette concentration élevée en PHA aiderait également à la perte d'efficacité d'enlèvement du phosphore pour environ 48 cycles lors d'une diminution de la concentration en DCO à 300 mg/l

Alors que l'enlèvement du phosphore est incomplet pour une alternance de la concentration en DCO (300 et 500 mg DCO/l) dans l'alimentation (alternance du rapport DCO/P entre 15 et 25 mg DCO/mg P), l'application de la stratégie de contrôle permet d'obtenir un enlèvement complet du phosphore pour chaque cycles tout en gardant une concentration élevée en PHA.

Pour une alternance dans la concentration en phosphore (20 et 33 mg P/l) de l'alimentation (alternance du rapport DCO/P entre 15 et 25 mg DCO/mg P), l'application de la stratégie de contrôle n'améliore que très faiblement l'efficacité d'enlèvement du phosphore. Il existe donc une limite dans l'amélioration des performances du procédé pour l'alternance d'un même rapport DCO/P mais avec des concentrations différentes.

Dans le cas où l'application de la stratégie de contrôle à l'opération d'un réacteur réel s'avère efficace, le volume du réacteur pourrait être réduite pour un même débit d'affluent à traiter. Il serait également possible d'augmenter la quantité de phosphore éliminé quotidiennement.

Ce travail est le premier à aborder l'utilisation d'une méthode respirométrique pour le suivi de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique. Cette méthode propose ainsi une alternative à l'utilisation de capteurs existants mais plus dispendieux et nécessitant plus d'entretien.

La caractérisation de la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous au cours de la période aérobie est basée sur les résultats observés dans les travaux de Wentzel *et al.* (1992) et Smolders *et al.* (1995). Toutefois, les changements observés dans la dynamique du TUO sont ici soutenus par l'analyse systématique de la concentration en phosphore et en PHA. Bien que la dynamique du glycogène ait été également suivie, les résultats obtenus ne montrent pas un lien direct avec la dynamique de l'oxygène dissous. L'accumulation du phosphore étant indépendante de la production de glycogène, le suivi de la dynamique de la DCO, du phosphore, des PHA et de l'azote ammoniacal est suffisant pour caractériser les observations effectuées.

De plus, les méthodes respirométriques développées pourraient être appliquées au suivi de réacteurs opérés en mode continu. L'état du système pourrait être déterminé en différents points de l'écoulement pour un système à écoulement piston et à la sortie du réacteur pour un système complètement mélangé.

Enfin, la stratégie d'opération proposée met à profit une caractéristique du métabolisme des bactéries déphosphatantes et ouvre de nouvelle voies pour l'amélioration des performances du procédé de déphosphatation biologique.

L'application de cette stratégie d'opération favoriserait l'enlèvement quotidien d'une plus grande quantité de phosphore et la réduction de la tailles des réacteurs.

RECOMMANDATIONS

Le développement de la méthode respirométrique pour le suivi de la période anaérobie a été réalisée avec le traitement d'une eau usée reconstituée, dont la source de carbone était l'acétate. L'étape subséquente sera donc de vérifier et de valider la méthode pour le traitement d'une eau usée réelle caractérisée par la présence de plusieurs fractions de carbone (par exemple : rapidement biodégradable, rapidement et lentement fermentable).

Il a été observé qu'au second taux de relargage de phosphore en période anaérobie était associé une production de PHA. Cette production serait entre autre reliée à la fermentation du carbone rapidement et lentement biodégradable. Il serait donc intéressant de vérifier si la prolongation de la période anaérobie au-delà du moment où les acides gras volatils ont complètement été captés est réellement bénéfique pour les performances du procédé de déphosphatation biologique. Dans la négative, le suivi en ligne de la période anaérobie, par méthode respirométrique par exemple, permettrait de réduire et d'optimiser la durée de la période anaérobie. Une réduction du temps de réaction permettrait de réduire le volume du réacteur et d'éliminer une plus grande quantité de phosphore sur une période donnée.

Il serait intéressant de vérifier que le contrôle de la durée de la période aérobie, en la limitant au temps nécessaire à l'accumulation complète du phosphore, permettrait réellement d'augmenter les réserves de PHA intracellulaire chez les bactéries déphosphatantes. Il serait ainsi possible de caractériser la capacité d'accumulation des PHA et par la suite d'étudier le comportement du système pour différents événements, comme la chute du rapport DCO/P pour plusieurs cycles ou une alterance du rapport DCO/P de cycle en cycle, qui généralement conduisent à des pertes d'efficacité.

Enfin, comme la déphosphatation biologique est souvent accompagnée des réactions de nitrification et de dénitrification, il serait intéressant d'élaborer une stratégie global d'opération visant à optimiser l'enlèvement de l'azote et du phosphore des eaux usées, basée sur la mesure combinée du taux de consommation en oxygène dissous et du potentiel d'oxydo-réduction, par exemple.

RÉFÉRENCES

ANDERSON, A.J. et DAWES, E.A. (1990). Occurrence, metabolism, metabolic rôle, and industrial uses of bacterial polyhydrosyalcanoates. Microbiological Reviews, 54(4), 450-472.

ANTE, A., BESCHE, H.U. et VOSS, H. (1994). A mathematical model for enhanced biological phosphorus removal. Wat. Sci. Tech., 30(2), 193-203.

ARUN, V., MINO, T. et MATSUO, T. (1989). Metabolism of carboxylic acids located in and around the glycolytic pathway and the TCA cycle in the biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech., 21, 363-374.

ARVIN, E. (1985). Biological removal of phosphorus from wastewater. CRC Critical Reviews in Environmental Control, 15(1), 25-64.

BARKER, P.S. et DOLD, P.L. (1997). General model for biological nutrient removal activated sludge systems : model presentation. Wat. Environm. Fed., 69, 969-984.

BASTIN, G. et DOCHAIN, D. (1990). On-line estimation and adaptive control of bioreactors. Elsevier, Amsterdam.

BROUWER, H., KLAPWIJK, A. et KEESMAN, J., (1994). Modelling and control of activated sludge plants on the basis of respirometry, Wat. Sci. Tech., 30(4), 265-274.

CARUCCI, A., MAJONE, M., RAMADORI, R. et ROSSETTI, S. (1994). Dynamics of phosphorus and organic substrates in anaerobic and aerobic phases of a sequencing batch reactor. Wat. Sci. Tech., 30(6), 237-246.

CASSIDY, D.P. et IRVINE, R.L. (1997). Biological treatment of a soil contaminated with diesel fuel using periodically operated slurry and solid phase reactors. Wat. Sci. Tech., 35(1), 185-192.

CECH, J.S. et HARTMAN, P. (1990). Glucose induced break down of enhanced biological phosphate removal. Environmental Technology, 11, 651-656.

CECH, J.D. et HARTMAN, P. (1993). Competition between polyphosphate and polysaccharide accumulating bacteria in enhanced biological phosphate removal systems. Wat. Res., 27(7), 1219-1225.

CECH, J.D. et HARTMAN, P. et Macek, M. (1994). Bacteria and protozoa population dynamics in biological phosphate removal systems. Wat. Sci. Tech., 29(7), 109-117.

COMEAU, Y., HALL, K.J., HANCOCK, R.E.W. et OLDHAM, W.K. (1986). Biochemical model for enhanced biological phosphorus removal. Wat. Res., 20(12), 1511-1521.

COMEAU, Y., OLDHAM, W.K. et HALL, K.J. (1987a). Dynamics of carbon reserves in biological dephosphatation of wastewater, Advances in Water Pollution Control, IAWPRC Int. Conf. In Rome on : Biological phosphate removal from wastewaters, 39-55.

COMEAU, Y., RABINOWITZ, B., HALL, K.J. et OLDHAM, W.K. (1987b). Phosphate release and uptake in enhanced biological phosphorus removal from wastewater. Wat. Poll. Cont. Fed. J., 59(7), 707-715.

COMEAU, Y. (1989). The Role of Carbon Storage in Biological Phosphate Removal from Wastewater. Ph.D. thesis, Department of Civil Engineering, University of British Columbia, Vanvouver, Canada.

COMEAU, Y. (1990) La déphosphatation biologique - procédés et conception). Sciences et Techniques de l'eau, 23(2), 199-219.

COMEAU, Y., HALL, K.J. et OLDHAM, W.K. (1991). Indirect polyphosphate quantification in activated sludge. Wat. Poll. Res. J. Canada, 25(2), 161-174.

COMEAU, Y., LAMARRE,D., ROBERGE, F., PERRIER, M., DESJARDINS, G. et HADE, C. (1996). Biological nutriuent removal from a phosphorus-rich pre-fermented industrial wastewater. Wat. Sci. Tech., 34(1-2), 169-177.

DEMUYNCK, C., VANROLLEGHEM, P., MINGNEAU, C., LIESSEN, J. et VERSTRAETE, W. (1994). NDBEPR Process Optimization in SBRs: Reduction of External Carbon-Source and Oxygen Supply. *Wat. Sci. Tech.*, 30 (4), 169-179.

DOLD, P.L. (1991). Modification du modèle général des boues activées pour y inclure la déphosphatation biologique. Sciences et techniques de l'eau, 24(3), 229-243.

DUMAS, C., (1990). Contribution à la caractérisation de la biocinétique d'enlèvement des polluants C/N/P dans un " réacteur biologique séquentiel " opéré à faible charge. Mémoire de M.Sc.A., École Polytechnique, Montréal, Canada.

GERBER, A., DE VILLIERS, R.., MOSTERT, E.S. et VAN RIET, C.J.J. (1987a). The phenomenon of simultaneous phosphate uptake and release,, and its importance in biological nutrient removal. In : Advances in Water Pollution Control : biological phosphate removal from wastewaters, Edited by Ramadori, R., Pergamon Press, 124-134.

GERBER, A. MOSTER, E.S., WINTER, C.T. et DE VILLIERS, R.H. (1987b). Interactions between phosphate, nitrate and organic substrate in biological nutrient removal processes. Wat. Sci. Tech., 19, 183-194.

GERHARDT, P. (1994) Methods for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C., section 22.3.4, page 520).

GUJER, W., HENZE, M., MINO, T., MATSUO, T., WENTZEL, M.C. et MARAIS, G.v.R. (1995). The activated sludge model no.2 : biological phosphorus removal. Wat. Sci. Tech., 31(2), 1-11.

HENZE, M., GRADY JR, C.P.L., GUJER, W. MARAIS, G.v.R. et MATSUO, T. (1987) Activated sludge model No.1, Scientific and technical report, International Association on Water Pollution Research and Control (IAWPRC), Publié par IAWPRC, London, England

ISAACS, S. et TEMMINK, H. (1996). Experiences with automatic N and P measurements of an activated sludge process in a research environment. Wat. Sci. Tech., 33 (1), 165-173.

ISAACS, S. (1997). Automatic adjustment of cycle length and aeration time for improved nitrogen removal in an alternating activated sludge process. Wat. Sci. Tech., 35(1), 225-232.

JOHANSSON, P. (1994). SIPHOR a kinetic model for simulation of biological phosphate removal. Thèse de doctorat, Département de génie des eaux et de l'environnement, Université de Lund, Lund, Suède.

KETCHUM, L.H.Jr. (1997). Design and physical features of sequencing batch reactors. Wat. Sci. Tech., 35(1), 11-18.

KLAPWIJK, A., SPANJERS, H et TEMMINK, H., (1993). Control of activated sludge plants based on measurement of respiration rates. Dans : 6th IAWQ Workshop. Instrumentation, Control and Automation of Water ans Wastewater Treatment Transportation Systems, Banff and Hamilton, Canada, 216-226.

KONG, Z., VANROLLEGHEM, P. et VERSTRAETE, W. (1994). Automated respiration inhibition kinetics analysis (ARIKA) with a respirographic biosensor. Wat. Sci. Tech., 30(4), 275-284.

LAMARRE, D. (1996). Optimisation de l'opération d'un réacteur biologique séquentiel pour l'élimination des nutriments d'un effluent industriel agro-alimentaire réel fortement chargé en carbone, azote et phosphore, Mémoire de M.Sc.A., École Polytechnique, Montréal, Canada.

LAROSE, A. (1992). Faisabilité du contrôle d'un réacteur biologique séquentiel (RBS) à l'aide de paramètres externes. Mémoire de M.Sc.A., École Polytechnique, Montréal, Canada.

LAROSE, A., PERRIER, M. et COMEAU, Y. (1997). Respirometric control of the anaerobic period duration of an SBR bio-P process. Wat. Sci. Tech., 36(5), 293-300.

LIU, W., MINO, T., MATSUO, T. et NAKAMURA, K. (1996). Biological phosphorus removal processes – Effect of pH on anaerobic substrate metabolism. Wat. Sci. Tech., 34(1-2), 25-32.

LIU, W., NAKAMURA, K., MATSUO, T. et MINO, T. (1997). Internal energy-based competition between polyphosphate and glycogen-accumulating bacteria in biological phosphorus removal reactors – Effect of P/C feeding ratio. Wat. Res., 31(6), 1430-1438.

LYNGGAARD-JENSEN, A., EISUM, N.H., RASMUSSEN, I., SVANKJAER JACOBSEN, H. et STENSTROM, T. (1996). Description and test of a new generation of nutrient sensors. Wat. Sc. Tech., 33 (1), 25-35.

MARAIS, G.V.R., LOEWENTHAL, R.E. et SIEBRITZ, I.P. (1983). Observations supporting phosphate removal by biological excess uptake- a review. Wat. Sci. Tech., 15, 15-41.

MATSUO, T., MINO, T. et SATOH, H. (1992). Metabolism of organic substances in anaerobic phase of biological phosphate uptake process. Wat. Sci. Tech., 25(6), 83-92.

MATSUO, T., (1994). Effect of the anaerobic solids retention time on enhanced biological phosphorus removal. *Wat. Sci. Tech.*, 30(6), 193-202.

MINO, T., ARUN, V., TSUSUKI,Y. et MATSUO, T., (1987). Effect of phosphorus accumulation on acetate metabolism in the biological phosphorus removal process. Biological phosphate removal from wastewaters, Advances in Water Pollution Control 4, Ed. Ramadori, Pergamon Press, Oxford, 27-38.

MINO, T., LIU, W., KURISU, F. et MATSUO, T. (1995a). Modelling glycogen storage and denitrification capability of microorganisms in enhanced biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech., 31(2), 25-34.

MINO. T., SAN PEDRO, D.C. et MATSUO, T. (1995b). Estimation of the rate of slowly biodegradable COD (sbCOD) hydrolysis under anaerobic, anoxic and aerobic conditions by experiments using starch as model substrate. Wat. Sci. Tech., 31(2), 95-103.

MURNLEITNER, E., KUBA, T, VAN LOOSDRECHT, M.C.M. et HEIJNEN, J.J. (1996). An integrated metabolic model for the aerobic and denitrifying biological phosphorus removal. Biotechnol. & Bioeng., 54(5), 434-450.

OKADA, M., et SUDO, R. (1986). Performance of sequencing batch reactor activated sludge processes for simultaneous removal of nitrogen, phosphorus and BOD as applied to small community sewage treatment. Wat. Sci. Tech., 18, 363-370.

OKADA, M., TERAZONO, K et SUDO, R. (1991). Removal of nutrients and BOD from soybean fermentation wastewater in a ten-year-old sequencing batch reactor activated sludge process. Wat. Sci. Tech., 85-92.

RANDALL, A.A., BENEFIELD, L.D. et HILL, W.E., (1994) The effect of fermentation products on enhanced biological phosphorus removal, polyphosphate storage, and microbial population dynamics, Wat. Sci. Tech., 30(6), 213-219.

RENNER, G. et BRAUNEGG, G. (1996) Production of short side chain polyhydroxyalcanoates by various bacteria from the rRNA superfamilly III, Appl. Microbiol. and Biotechnol., 46(3), 268-272.

RICKARD, L.F. et McCLINTOCK, S.A. (1992). Potassium and magnesium requirements for enhanced biological phosphorus removal from wastewater. Wat. Sci. Tech., 26(9-11), 2203-2206.

ROBERGE, F., (1991). Analyse de l'influence des conditions d'opération d'un " réacteur biologique séquentiel " sur le biotraitement d'une eau usée faiblement chargée. Mémoire de M.Sc.A., École Polytechnique, Montréal, Canada.

ROS, M. (1993) Respirometry of activated sludge, Technomic publicashing company Inc., Pa, U.S.A.

SAN PEDRO, D.C., MINO, T et MATSUO, T. (1994). Evaluation of the rate of hydrolysis of slowly biodegradable COD (sbCOD) using starch as substrate under anaerobic, anoxic and aerobic conditions. Wat. Sci. Tech,. 31(11), 191-199.

SATOH, H., MINO, T. et MATSUO, T. (1992). Uptake of organic substrates and accumulation of polyhydroxyalkanoates linked with glycolysis of intracellular carbohydrates under anaerobic conditions in the biological excess phosphate removal processes. Wat. Sci. Tech., 26(5-6), 933-942.

SATOH, H., MINO, T. et MATSUO, T. (1994). Deterioration of enhanced biological phosphorus removal by the domination of microorganisms without polyphosphate accumulation. Wat. Sci. Tech., 30(6), 203-211.

SMOLDERS, G.J.F., VAN DER MEIJ, J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. et HEIJNEN, J.J. (1994a). Model of the anaerobic metabolism of the biological phosphorus removal process : stoichiometry and pH influence. Biotechnol. & Bioeng., 43, 461-470.

SMOLDERS, G.J.F., VAN DER MEIJ, J., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. et HEIJNEN, J.J. (1994b). Stoichiometric model of the aerobic metabolism of the biological phosphorus removal process. Biotechnol. & Bioeng., 44, 837-848.

SMOLDERS, G.J.F., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. et HEIJNEN, J.J. (1994c). PH : keyfactor in the biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech., 29(7), 71-74.

SMOLDERS, G.J.F. (1995) A metabolic model of the biological phosphorus removal stoichiometry, kinetics and dynamics behaviour. Ph.D. thesis, Department of biochemical engineering, University of technology, Delft, The Netherlands.

SMOLDERS, G.J.F., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. et HEIJNEN, J.J. (1995). A metabolic model for the biological phosphorus removal process. Wat. Sci. Tech,. 31(2), 79-93.

SPANJERS, H., OLSSON, G. et KLAPWIJK, A. (1993). Determining influent short-term biochemical oxygen demand by combining respirometry and estimation. Wat. Sci. Tech., 28 (11-12), 401-414.

SPANJERS, H. et VANROLLEGHEM, P., (1995). Respirometry as a tool for rapid characterization of wastewater and activated sludge. Wat. Sci. Tech., 31(2), 105-114.

SPANJERS, H., VANROLLEGHEM, P. OLSSON, G. et DOLD, P., (1996). Respirometry in control of the activated sludge process. Wat. Sci. Tech., 34(3-4), 117-126.

STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTEWATER (1995). 19th ed, American Public Health Association/ American Water Works Association/ Water Environment Federation, Washington DC, USA.

THORNBERG, D.E., NIELSEN, M.K. et ANDERSEN, K.L. (1993). Nutrient removal : on-line measurements and control strategies. Wat. Sci. Tech., 28(11-12), 549-560.

VANROLLEGHEM, P. et VERSTRAETE, W. (1993). Simultaneous biokinetic characterization of heterotrophic and nitrifying populations of activated sludge with an on-line respirographic biosensor. Wat. Sci. Tech., 28(11-12), 377-387.

VANROLLEGHEM, P. (1994). On-Line Modelling of Activated Sludge Processes : Development of an Adaptative Sensor. Ph.D. thesis, BIOMATH department of applied mathematics, biometrics and process control, University of Gent, Gent, Belgium.

VANROLLEGHEM, P et VAN DAELE, M. (1994). Optimal Experimental design for strucured characterization of biodegradation models: on-line implementation in a respirographic biosensor. Wat. Sci. Tech., 30(4), 243-253.

VANROLLEGHEM, P. et COEN, F., (1995). Optimal design of in-sensor-experiments for on-line modelling of nitrogen removal processes. Wat. Sci. Tech., 31(2), 149-160.

WACHTMEISTER, A., KUBA, T., VAN LOOSDRECHT, M.C.M. et HEIJNEN, J.J. (1997). A sludge characterization assay for aerobic and denitrifying phosphorus removing sludge. Wat. Res., 31(3), 471-478.

WENTZEL, M.C., LÖTTER, L.H., LOEWENTHAL, R.E. et MARAIS, G.v.R. (1986). Metabolic behaviour of *Acinetobacter* spp. In enhanced biological phosphorus removal - a biochemical model. Water SA, 12(4), 209-224.

WENTZEL, M.C., DOLD, P.L., LOEWENTHAL, R.E., EKAMA, G.A. et MARAIS, G.v.R. (1987). Experiments towards establishing the kinetics of biological excess phosphorus removal. Dans: Advances in Water Pollution Control: Biological Phosphate Removal from Wastewaters, (Edité par Ramadori, R.). Pergamon Press, Oxford. U.K., 79-97.

WENTZEL, M.C., LOWENTHAL, R.E., EKAMA, G.A. et MARAIS, G.v.R. (1988). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part I: Enhanced Culture. Water SA, 14 (2) , 81-92.

WENTZEL, M.C., EKAMA, G.A., LOEWENTHAL, R.E., DOLD, P.L. et MARAIS, G.v.R. (1989). Enhanced polyphosphate organism cultures in activated sludge systems. Part II: Experimental behaviour. Water SA, 15(2), 71-88.

WENTZEL, M.C., EKAMA, G.A. et MARAIS, G.v.R. (1992). Processes and modelling of nitrification denitrification biological excess phosphorus removal systems – A review. Wat. Sci. Tech., 25(6), 59-82

WENTZEL, M.C., MBEWE, A. et EKAMA, G.A. (1995). Batch test for measurement of readily biodegradable COD and active organism concentration in municipal waste waters. Water SA, 21 (2), 117-124.

ANNEXES

ANNEXE I
MÉTHODES ANALYTIQUES

A1.1 Demande chimique en oxygène (DCO)

La détermination de la demande chimique en oxygène (DCO) est effectuée par la méthode de digestion à reflux fermée (Standard methods, 1995; méthode 5220 D). Un échantillon est chauffé en présence d'acide sulfurique concentré avec un excès connu de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$; couleur orange) dans un tube fermé hermétiquement et placé dans un bloc de chauffage à 150 °C pendant 2 heures. Après digestion, le changement de couleur de l'échantillon de orange à vert est mesuré au spectrophotomètre à 600 nm. Pour des concentrations supérieures à 30 mg/l, la précision des mesures est de ± 5 mg/l, mais cet écart augmente considérablement pour des concentrations de moins de 30 mg/l.

A1.2 Matières solides

A1.2.1 Matières en suspension (MES)

Un échantillon de liqueur mixte bien mélangé est filtré sur un filtre en fibre de verre (pores de 1,5 µm) préalablement rincé à l'eau distillée, séché et pesé. Les échantillons sont séchés au four à 105 °C jusqu'à évaporation complète de l'eau (60 minutes en général). La différence de poids sec représente les matières en suspension. Les filtres utilisés sont des Whatman 934AH déposés dans des assiettes en aluminium. La déviation relative sur cette détermination est de 5%. (Standard methods, 1995; méthode 2540 D).

A1.2.2 Matières volatiles en suspension (MVES)

Le matériel utilisé pour les MES est aussi utilisé pour cette détermination. Après avoir effectué l'analyse des MES, l'assiette en aluminium et le filtre sont placés dans un four à 550 °C pendant 15 minutes, refroidis au dessicateur et pesés à nouveau. La différence entre le poids final et celui des MES donne les matières volatiles en suspension (Standard methods, 1995; méthode 2540 E).

A1.3 Azote

A1.3.1 Azote ammoniacal

L'azote ammoniacal est mesuré à l'aide d'un auto analyseur Lachat QuikChem AE modèle 2300 en utilisant la méthode Lachat # 10-107-06-1-A qui est une adaptation de la méthode standard au phénate (Standard methods, 1995; méthode 4500-NH30D). L'ammoniaque réagit avec une solution alcaline de phénol, puis avec une solution d'hypochlorite pour former du bleu d'indophénol. Pour augmenter la sensibilité, du nitroferricyanure est ajouté. L'absorbance mesurée à 630 nm est proportionnelle à la concentration. La limite de détection est de 0,02 mg N/l et l'erreur relative est de 1%.

A1.3.2 Nitrate et nitrite (NO_3, NO_2)

Les nitrates et les nitrites sont mesuré à l'aide de l'auto analyseur Lachat selon la méthode QuikChem 10-107-04-1-0. Pour cette méthode, les NO_3^- sont quantitativement réduits en NO_2^- lors du passage de l'échantillon au travers d'une colonne de granules de cadmium plaqués de cuivre. Les nitrites initialement présents plus ceux provenants de la réduction des nitrates sont ensuite transformés en un composé diazoté par addition de sulfamide. Au complexe formé, on ajoute ensuite du N-(1-naphtyl)-éthylènediamine-dihydrochlorure afin de produire un colorant de

couleur magenta dont l'intensité, proportionnelle à la concentration, est lue sur un colorimètre à 520 nm. La limite de détection est de 0,002 mg N/l et la déviation standard est de 3%.

A1.4 Phosphore

A1.4.1 Orthophosphates

La méthode à l'acide vanadomolybdophosphorique est utilisée : le molybdate d'ammonium réagit en milieu acide avec l'ion orthophosphate pour former l'acide hétéropolyphosphomolybdique en présence de vanadium pour produire l'acide vanadomolybdophosphorique dont la coloration jaune est mesurée au spectrophotomètre à 420 nm (Standard methods, 1995 ; méthode 4500-PC). La limite de détection est de 1 mg/l avec une déviation standard de 8%.

A1.4.2 Polyphosphates intracellulaires

La détermination du pourcentage de polyphosphates est réalisée selon la méthode de Comeau et al., (1991) qui permet de quantifier de façon spécifique le potentiel de déphosphatation biologique de la biomasse. Cette mesure est basée sur la caractéristique qu'ont les bactéries déphosphatantes de dégrader leurs réserves de polyphosphates et de relarguer des phosphates en solution pour stocker de l'acétate sous forme de PHA. En présence d'un excès d'acétate pendant une durée suffisamment longue (3 heures) il y aura dégradation complète des réserves de polyphosphates pouvant servir au stockage d'acétate. Le pourcentage de polyphosphates intracellulaire est déterminé en mesurant au début, les MVES et les o-PO_4 et à la fin les o-PO_4 et est calculé selon l'équation Ann.1. Les facteurs de dilution doivent être considérés dans le calcul.

$$\% \text{ polyphosphates} = (\text{o-PO}_4 \text{ fin} - \text{o-PO}_4 \text{ début}) / \text{MVES} \cdot 100 \qquad (A.1)$$

A1.5 Glycogène:

Méthode utilisé par Agropur, Coopérative agro-alimentaire – Recherche et développement.
(Autre référence : Gerhardt, P. (1994) Methods for general and molecular bacteriology, American Society for Microbiology, Washington, D.C., section 22.3.4, page 520).

Le glycogène est extrait de la boue par solubilisation suivi d'une précipitation à l'éthanol. Le glycogène est ensuite hydrolysé en milieu acide. Le glucose libéré est dosé par chromatographie liquide.

Hydrolyse alcaline:

Cette étape permet de solubiliser le glycogène.

- Peser précisément la boue lyophilisée (entre 0,5000 et 1,0000g) dans un tube à centrifuger à bouchon vissable de 15 ml;
- Ajouter à chacun des échantillons 1,5 ml de KOH 50%;
- Agiter légèrement et placer à l'étuve à 100°C pendant 6 heures;
- Après l'hydrolyse, centrifuger les échantillons à 1000 g pendant 10 minutes et transférer le surnageant dans un tube à centrifuger propre;
- Laver le culot 2 fois avec 0,75 ml d'eau déminéralisée. Centrifuger après chaque lavage, recueillir et combiner les surnageants.

Précipitation du glycogène:

À cette étape le glycogène est séparé des autres constituants en le précipitant avec l'éthanol froid.

- À chacun des surnageants ajouter 9 ml de EtOH froid;
- Placer ensuite les échantillons au congélateur pendant 8 heures. Le fait de placer les échantillons au froid favorisera la précipitation complète du glycogène;
- Centrifuger ensuite les échantillons à 1000 g pendant 10 minutes;
- Jeter les surnageants.

Hydrolyse du glycogène:

Le glycogène est ensuite hydrolysé en milieu acide afin de libérer les unités de glucose.

- À chacun des échantillons ajouter au culot 2,5 ml de HCl 4 N;
- Agiter légèrement puis placer dans un bain d'eau bouillante pendant 6 heures;
- Durant l'hydrolyse agiter l'échantillon à toutes les 2 heures.

Préparation de l'échantillon pour analyse du glucose:

- Après l'hydrolyse, centrifuger les échantillons à 1000 g pendant 10 minutes;
- Transférer le surnageant dans une fiole volumétrique de 5 ml;
- Rincer deux fois le culot et le tube avec 0,75 ml d'eau distillée;
- Centrifuger à nouveau et récupérer les surnageants;
- Compléter le volume de la fiole à 5 ml;
- Filtrer la solution sur un filtre seringue de 0,45 μ (Gelman);
- Décolorer la solution en la passant sur un Sep-pak C_{18} (Waters);

- Filtrer à nouveau et placer la solution dans un vial de HPLC.

Analyse du glucose par HPLC:

Pompe:	Waters 510
Injecteur automatique:	Hewlett-Packard 1050
Pré-colonne:	Bio-Rad Deashing cartiges
Colonne:	Bio-Rad Aminex HPX-87H
T° de la colonne:	40 °C
Détecteur:	Réfractomètre différentiel Waters 410
	(Température 45 °C)
Système d'exploitation:	Millénium 2010
Éluant:	H_2SO_4 0,01N
Débit:	0,6 ml/min
Volume d'injection:	100 µl
Seuil de détection	0,05% (0,05 g de glucose par 100 ml de solution)

A1.6 Poly-β-hydroxyalcanoates

Le principe de la détermination des poly-β-hydroxyalcanoates (PHA) est une hydrolyse acide (H_2SO_4) des polymères de PHA en monomères d'hydroxybutyrate et d'hydroxyvalérate. Leur estérification méthylique permet leur récupération dans une phase de chloroforme qui est injectée dans un GC-FID.

Hydrolyse des PHA:

- Peser 0,02 g de boue activée lyophilisée;

- Mettre l'échantillon dans une éprouvette vissable avec un bouchon couvert de teflon;
- À chaque échantillon, ajouter 2 ml de méthanol acidifié (5% v/v H_2SO_4) contenant 0,2 % m/v d'acide benzoïque comme étalon interne et 2 ml de chloroforme;
- Fermer les bouchons et brasser les éprouvettes au vortex pendant 3 minutes;
- Mettre les échantillons à l'étuve à 105 °C pendant 3 heures. Après la première demi-heure, retirer les éprouvettes de l'étuve, les brasser au vortex pendant 3 minutes, les remettre à l'étuve pour les 2h30 restantes;
- Après refroidissement à la température ambiante, ajouter 2 ml d'eau distillée. Brasser vigoureusement au vortex pendant 3 minutes. Centrifuger à 1000 g pendant 5 minutes pour bien séparer les phases;
- Transférer la phase de chloroforme (celle du bas) dans un vial. Éviter de prendre les solides qui se trouvent à l'interphase;
- Analyser au GC.

Analyse au GC:

La méthode d'analyse au GC a été adaptée d'après Renner *et al.* (1996):

GC (Programme de température):

Température initiale du four:	90 °C
Température du détecteur:	220 °C
Température de l'injecteur:	180 °C
Pression d'opération:	1 psig

Le programme est constitué de 3 rampes de températures et est d'une durée de 15 minutes. L'hélium est utilisé comme gaz porteur (138 kPa).

Rampe 1:

Taux :	15	°C/min
Température finale:	60	°C

Rampe 2:

Taux :	8	°C/min
Température finale:	100	°C

Rampe 3:

Taux :	30	°C/min
Température finale:	220	°C

Le temps de rétention moyen pour chaque constituan est de:

Chloroforme:	1,44 minutes
Eau:	1,48 minutes
3HB:	1,87 minutes
3HV:	2,44 minutes
Standard interne:	4,18 minutes

Séquence pour l'injection (injecteur automatique: Hewlett Packard 7673 GC/SFC injector):

1. Rinçage de la seringue 4 fois avec de l'eau distillée;
2. Rinçage de la seringue 4 fois avec le chloroforme;
3. Rincçage de la seringue 4 fois avec l'échanitllon à analyser;
4. Injection de 1µl d'échantillon dans le GC (détecteur FID- colonne capillaire "on-column".

GC (HP5890 A):

Colonne:	HP1
Longueur:	15 m
Diamètre interne:	0,53 mm
Épaisseur de film:	9,15 µm
Pression d'opération:	1,40 psig (9,63 kPa)
Applications:	Amines, hydrocarbures, pesticides, BPC, phénols, composés sulfurés
Composition:	100 % diméthyl polysiloxane
Intervalle de température:	-60 °C à 325 °C
Détecteur:	ionisation de flamme

Débits et pressions:

He zéro:	40 psi	
H_2 prep:	18 psi	33 ml/min
Air zéro:	48 psi	520 ml/min

ANNEXE II
TESTS DE RESPIROMÉTRIE

Une série de tests respirométriques ont été réalisés au cours de la période expérimentale. Toutefois, les résultats n'ont pas tous été présentés dans le corps de la thèse. Ces tests ont contribué à la mise au point de la méthode de suivi respirométrique de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel (chapitre 4).

A2.1 Respiromètres

Au cours du développement de la méthode respirométrique servant au suivi de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique (chapitre 4), deux respiromètres ont été opérés en parallèle et de façon alternée avec un intervalle de 15 minutes. Deux échantillons de 50 ml recueillis au même moment dans le RBS ont été suivi par chacun des respiromètres pendant environ 45 minutes afin de comparer la réponse de chaque respiromètre. Les résultats obtenus ont démontré que la réponse des deux respiromètres était similaire et que les taux de consommation en oxygène dissous étaient comparables. L'utilisation de deux respiromètres indépendant opérés en parallèle est donc possible pour réaliser le suivi de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en RBS.

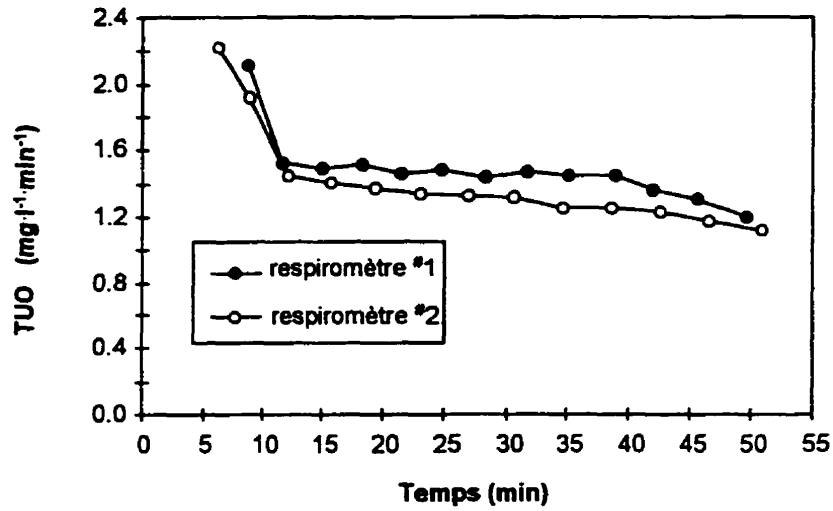


Figure A2.1 Réponse de deux respiromètres opérés en parallèle pour un même échantillon soumis au test de respirométrie. Échantillon de 50 ml. Consignes d'aération : 50% et 70% de la saturation. Débit d'air : 0,03 l/s.

A2.2 Calcul des taux de consommation en oxygène dissous

Le contrôle de la concentration en oxygène dissous était réalisé à l'aide d'un système de type « On-Off ». Les taux de consommation en oxygène dissous ont été calculés au cours de l'état « Off » du système de contrôle à l'aide de régressions linéaires. Les concentrations en oxygène dissous situées entre les consignes imposées sur la concentration en oxygène dissous au cours des tests de respirométrie ont été utilisées pour le calcul des taux de consommation en oxygène dissous. Des simulations réalisées à l'aide du logiciel MATLAB™ (annexe 4) ont permis de vérifier que les concentrations en oxygène dissous données par la sonde suivaient, dans cet intervalle, la dynamique de la concentration réelle (calculée à partir d'un bilan sur l'oxygène dissous autour du respiromètre) en oxygène dissous dans les respiromètres. Les taux de

consommation en oxygène dissous calculés étaient donc ceux du procédé et n'étaient pas affectés par la dynamique de la sonde (supposée d'ordre 1). Les cas du contrôle de la concentration en oxygène dissous entre 50% et 60% de la saturation et entre 40% et 70% de la saturation sont présentés aux Figures A2.2 et A2.3, respectivement.

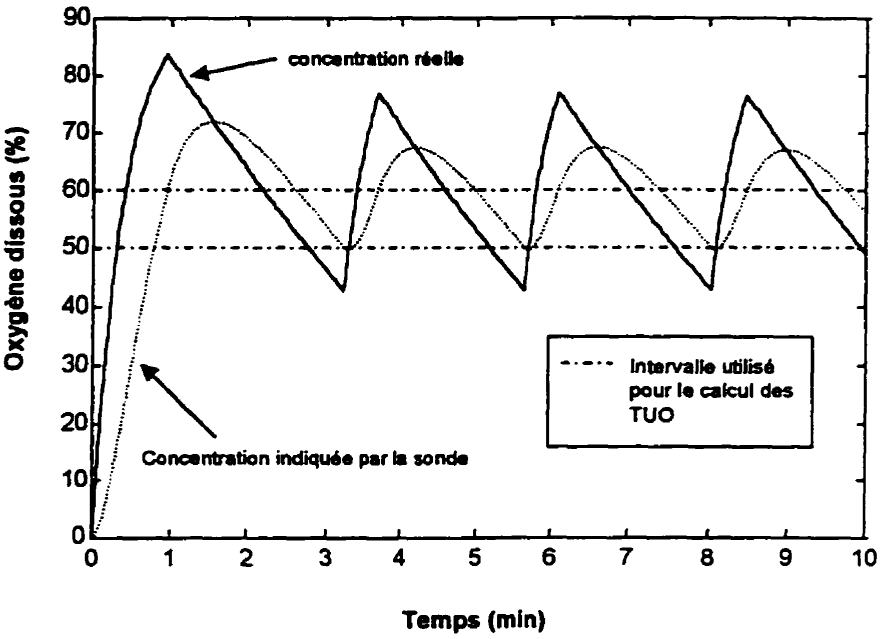


Figure A2.2 Dynamique de la réponse de la sonde à oxygène dissous en fonction de la concentration réelle en oxygène dissous. Consigne d'aération : entre 50% et 60% de la saturation. K_La=2,5 min^{-1}. O.D. à saturation = 9,032 mg O_2/l. Simulations réalisées à l'aide du logiciel MATLAB™.

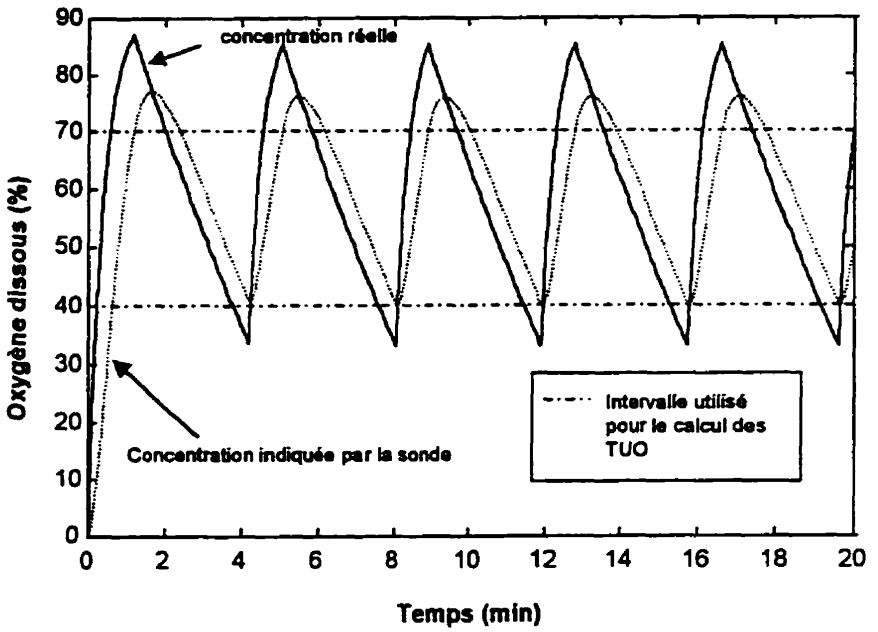


Figure A2.3 Dynamique de la réponse de la sonde à oxygène dissous comparée à la dynamique de la concentration réelle en oxygène dissous. Consigne d'aération : entre 40% et 70% de la saturation. K_La=2,5 min^{-1}. O.D. à saturation = 9,032 mg O_2/l. Simulations réalisées à l'aide du logiciel MATLAB™.

A2.3 Dynamique de l'acétate

Au cours de la période expérimentale, la DCO filtrée a été mesurée afin de suivre la dynamique du carbone rapidement biodégradable dans le réacteur et dans les respiromètres. La mesure de la DCO filtrée, bien que moins spécifique que la mesure directe de l'acétate, s'est avérée adéquate pour l'analyse des résultats expérimentaux.

Dans les suivis effectués, la consommation de la DCO filtrée n'était pas complète au cours de la période anaérobie, laissant une DCO résiduelle à peu près constante jusqu'à la fin du cycle. Cette DCO résiduelle semblait être constituée de carbone non

biodégradable et provenir de la lyse des cellules, puisque la source de carbone contenue dans l'alimentation était l'acétate de sodium, qui est complètement assimilable. Les changements observés dans la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous ont été associés, au chapitre 4, 5 et 6 au captage de la DCO rapidement biodégradable et plus particulièrement à la consommation complète de l'acétate. L'analyse de la DCO et de l'acétate au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique a démontré qu'avec l'arrêt de la consommation de la DCO filtrée correspondait la disparition de l'acétate dans le milieu réactionnel (Figure A2.4). Il est donc possible d'associer la chute observée dans la dynamique du taux de consommation en oxygène dissous et à l'arrêt de la consommation en DCO filtrée à la disparition complète de l'acétate du milieu réactionnel.

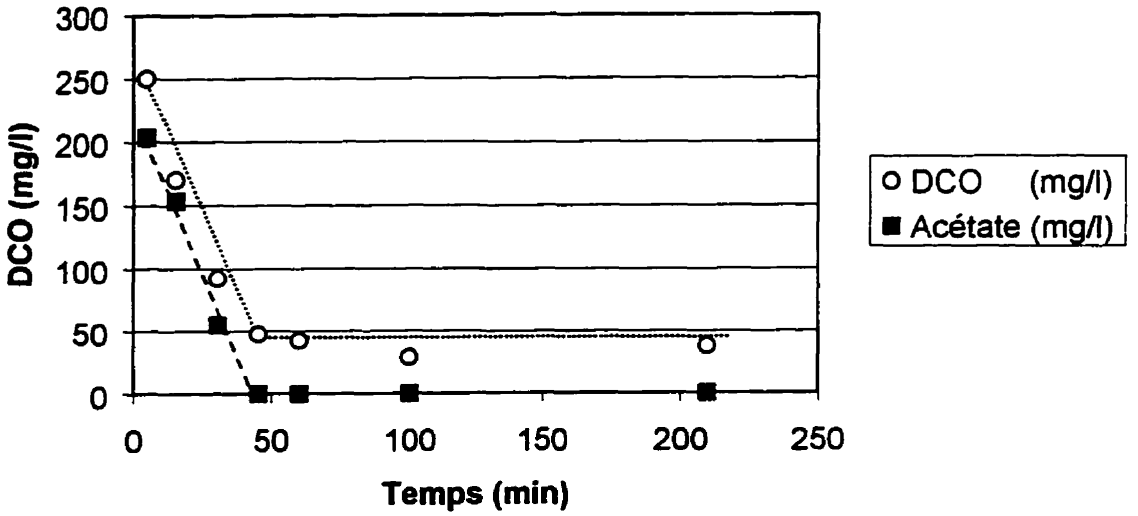


Figure A2.4 Dynamique de la DCO filtrée et de l'acétate au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel. DCO à l'alimentation = 494 mg/l (330 mg acétate/l),

A2.4 Tests de respirométrie

Des tests de respirométrie supplémentaires effectués au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique pour une alimentation contenant 500 mg DCO/l et 20 mg P/l sont présentés aux Figures A2.5 à A2.8 . Des tests effectués pour une alimentation contenant 300 mg DCO/l et 20 mg P/l sont présentés aux Figures A2.9 à A2.11 . Au cours de ces tests, 2 respiromètres étaient opérés en parallèle. Les tests étaient d'une durée de 30 minutes. Les consignes d'aération étaient situées entre 40% et 80 % de la saturation en oxygène dissous. Le débit d'air alimenté aux respiromètres était de 0,03 l/s.

Des tests de respirométrie réalisés vers la fin de la période expérimentale ont été effectués dans le cadre d'une étude préliminaire visant à optimiser la méthode respirométrique développée au chapitre 4. Ainsi, en réduisant l'intervalle entre les consignes d'aération, un plus grand nombre de taux de consommation en oxygène dissous peuvent être calculés au cours d'un test de respirométrie d'une durée de 30 minutes par exemple. Par ailleurs, afin de réduire le dépassement de la consigne supérieure au cours de l'aération de l'échantillon, il est possible de réduire le débit d'air. Pour des consignes d'aération similaires, la réduction du débit d'air diminue le nombre de taux de consommation en O.D. calculés. Les résultats de ces tests sont présentés aux Figures A2.12 à A2.15. En augmentant le nombre de taux de consommation en O.D. calculés pour un même intervalle de temps, il es possible de n'utiliser qu'un seul respiromètre et de réduire la durée de chaque test de respirométrie.

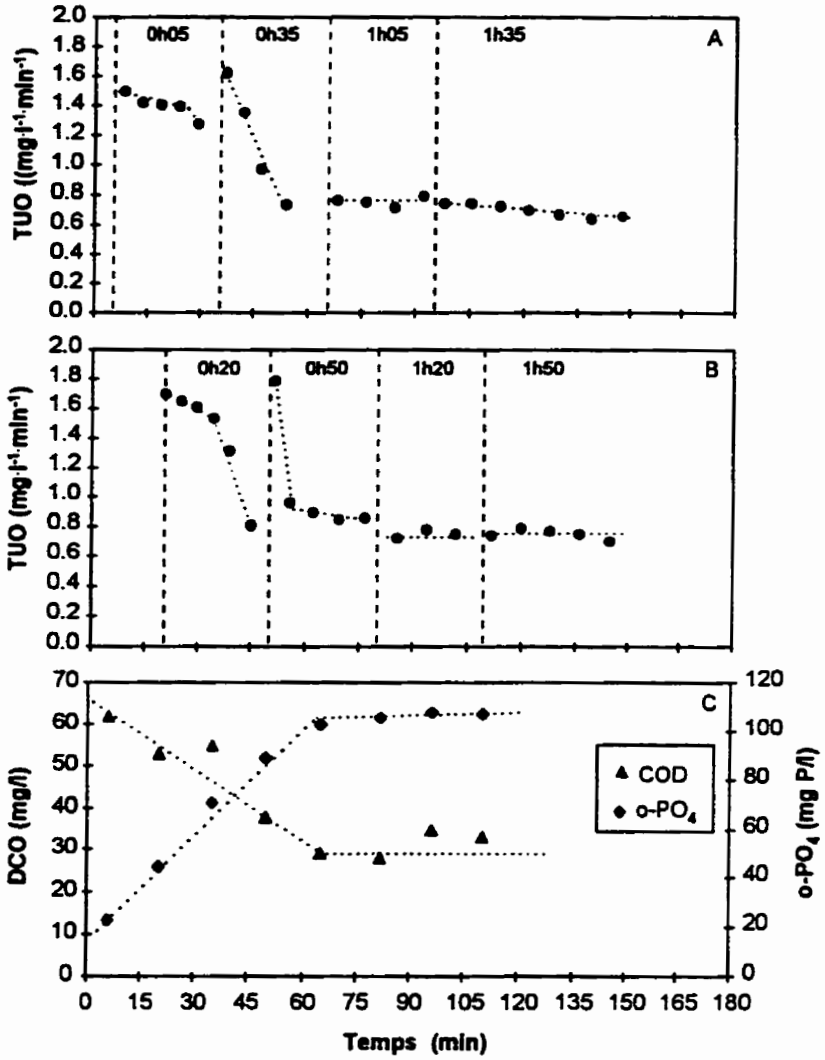


Figure A2.5 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO4 des échantillons recueillis dans le réacteur

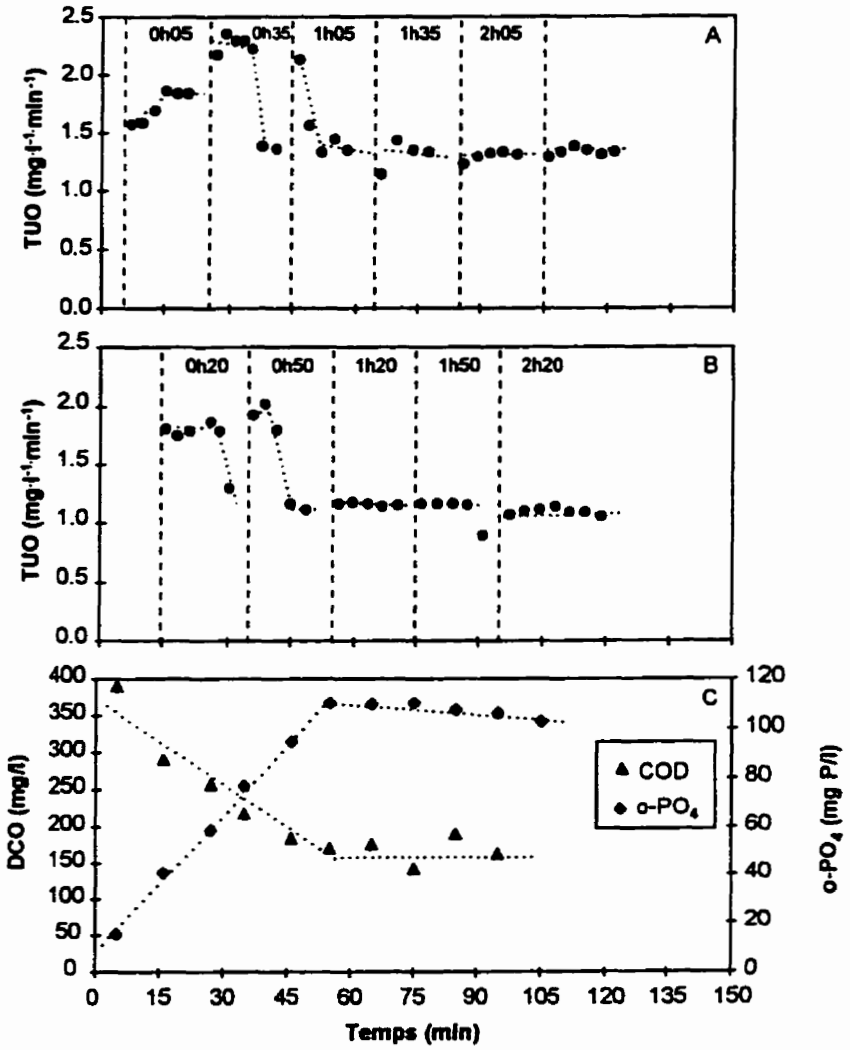


Figure A2.6 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO4 des échantillons recueillis dans le réacteur

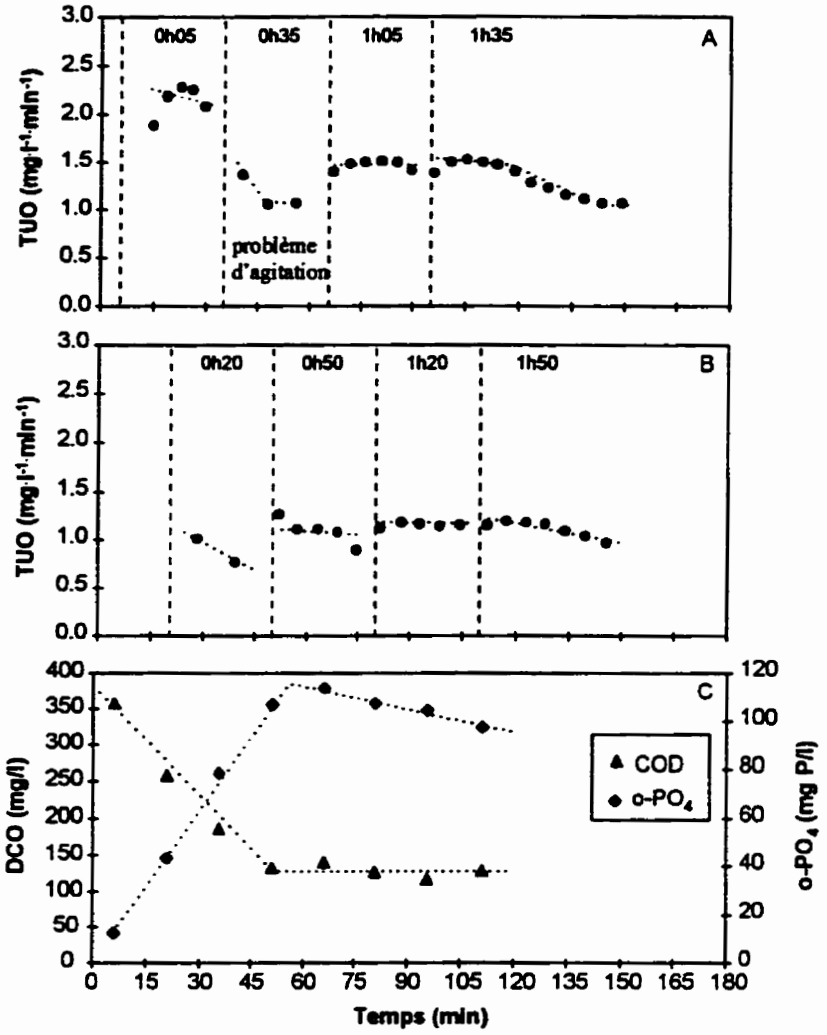


Figure A2.7 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

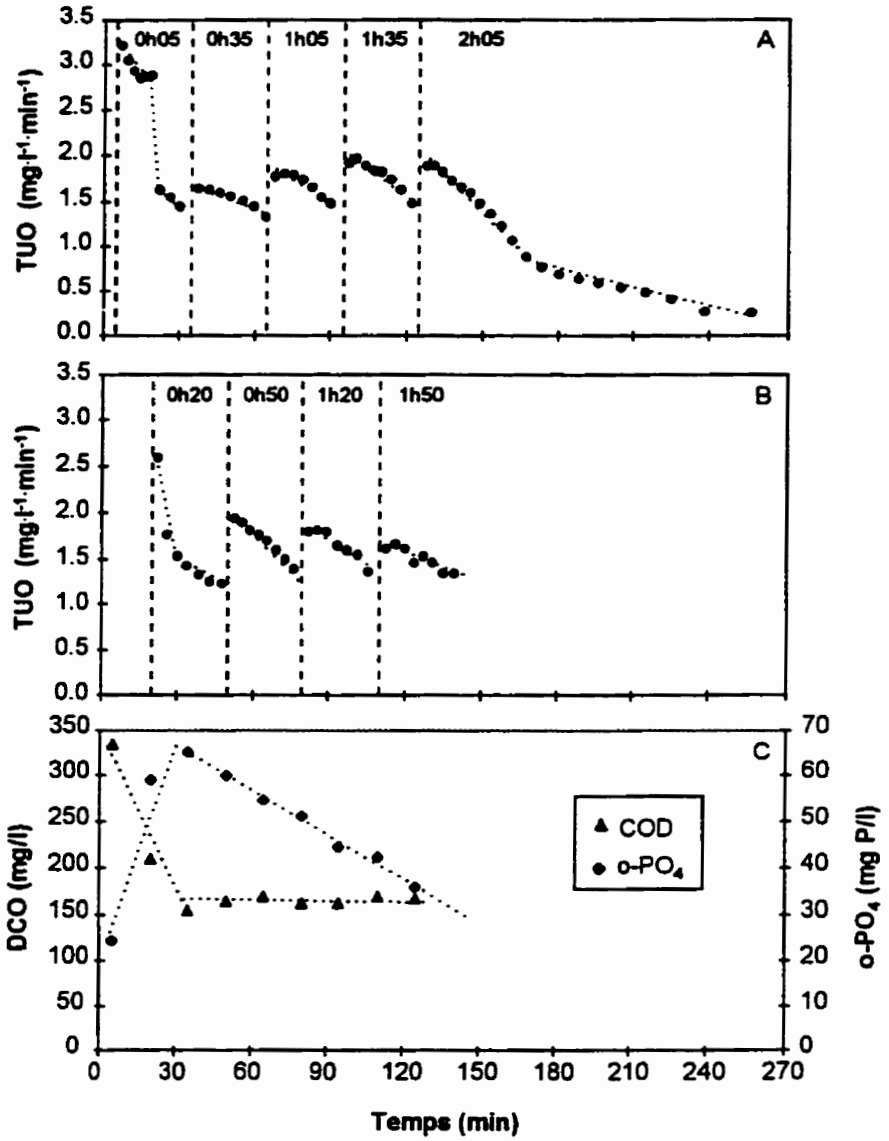


Figure A2.8 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

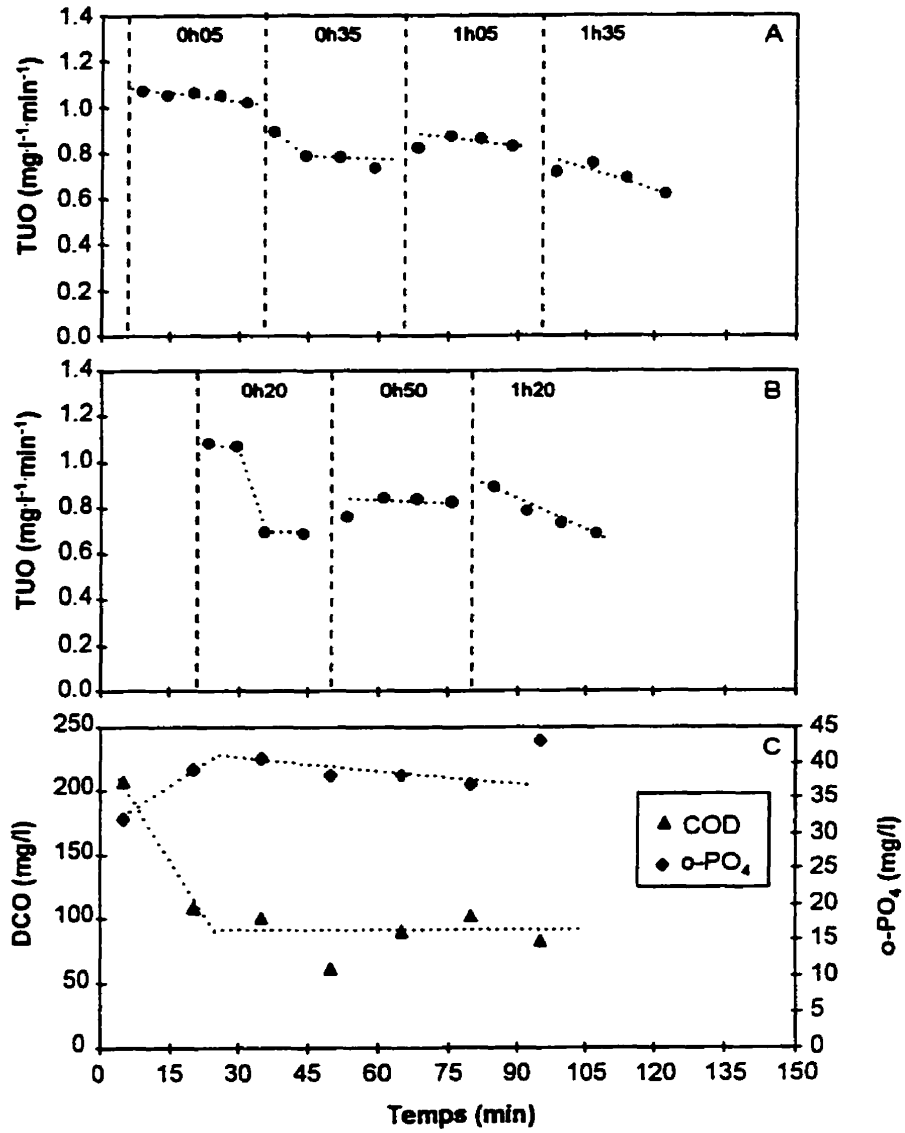


Figure A2.9 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 300 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

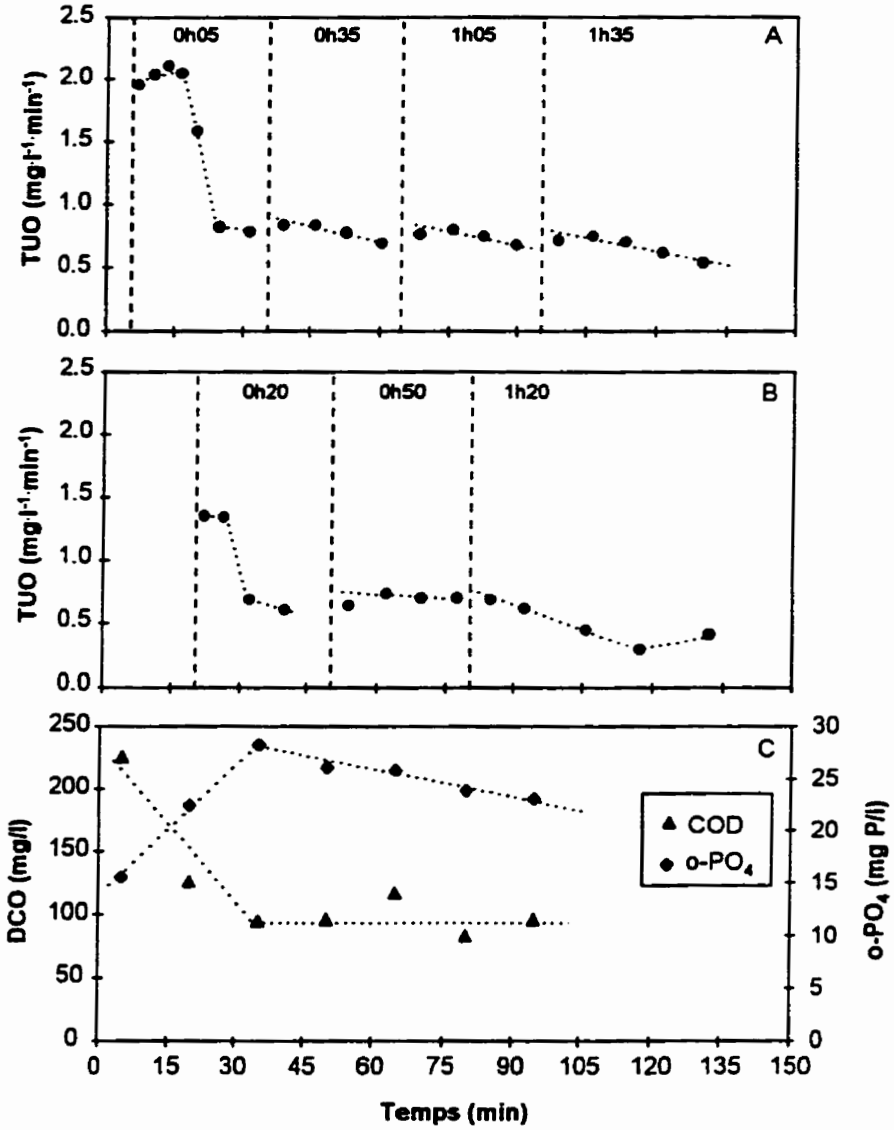


Figure A2.10 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 300 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

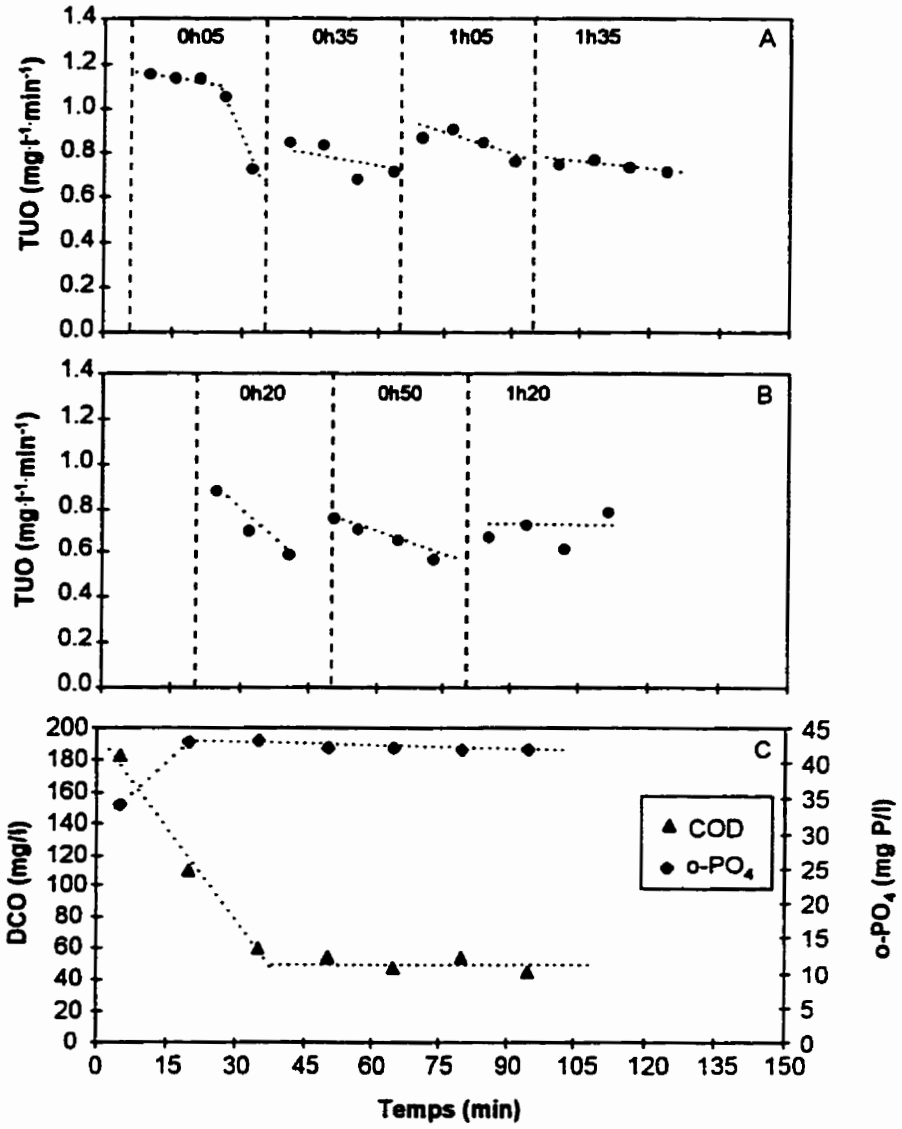


Figure A2.11 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 300 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 40% et 80% de la saturation en O.D. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

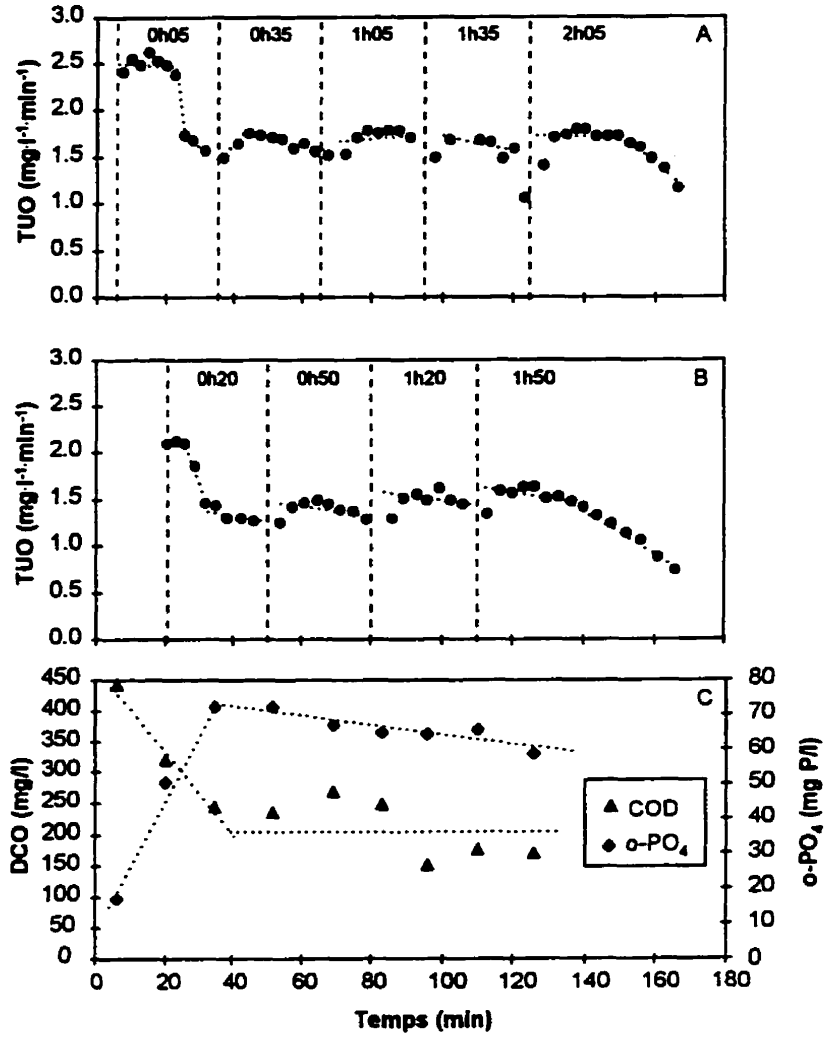


Figure A2.12 Opération en parallèle de deux respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 30 minutes. Consignes d'aération : 50% et 70% de la saturation en O.D.. A) TUO respiromètre #1, B) TUO respiromètre #2, C) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

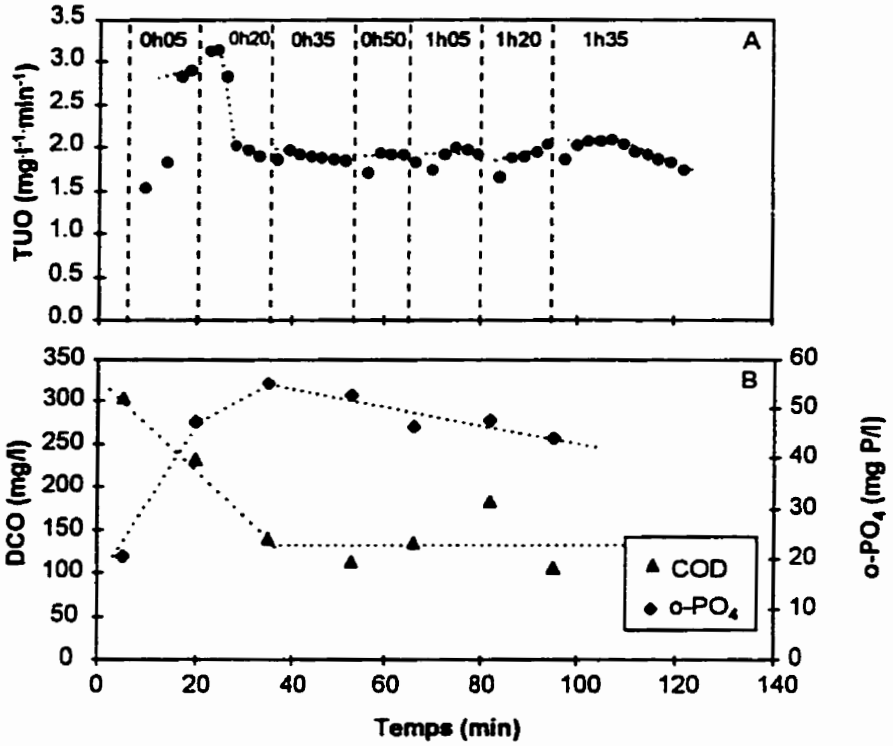


Figure A2.13 Opération d'un respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 15 minutes. Consignes d'aération : 50% et 70% de la saturation en O.D.. Débit d'air : 0,03 l/s. A) TUO, B) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

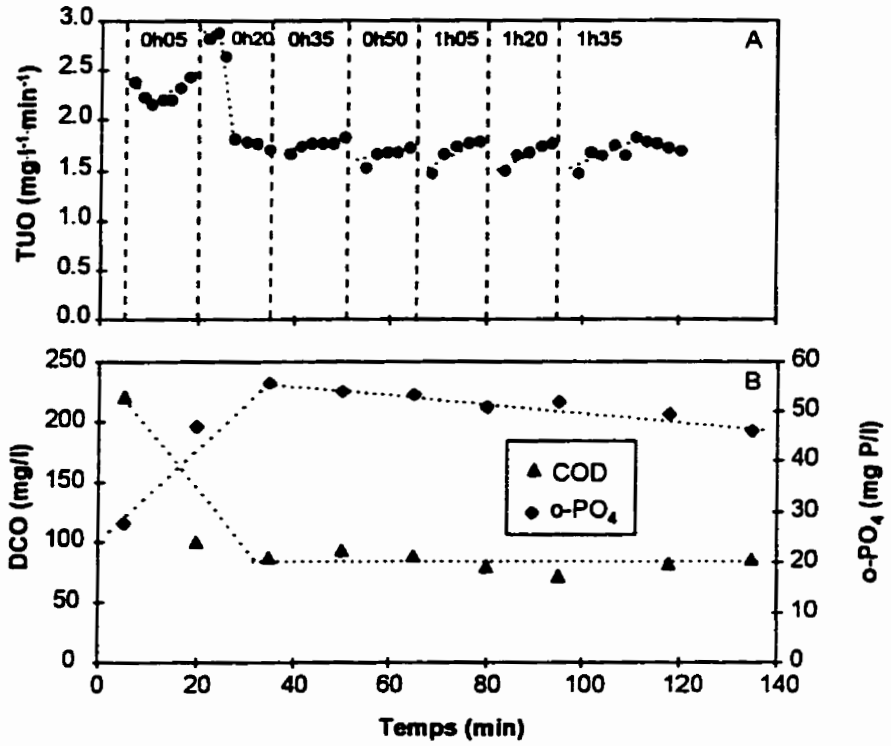


Figure A2.14 Opération d'un respiromètre pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 15 minutes. Consignes d'aération : 50% et 60% de la saturation en O.D.. Débit d'air : 0,03 l/s. A) TUO, B) DCO filtrée et o-PO4 des échantillons recueillis dans le réacteur.

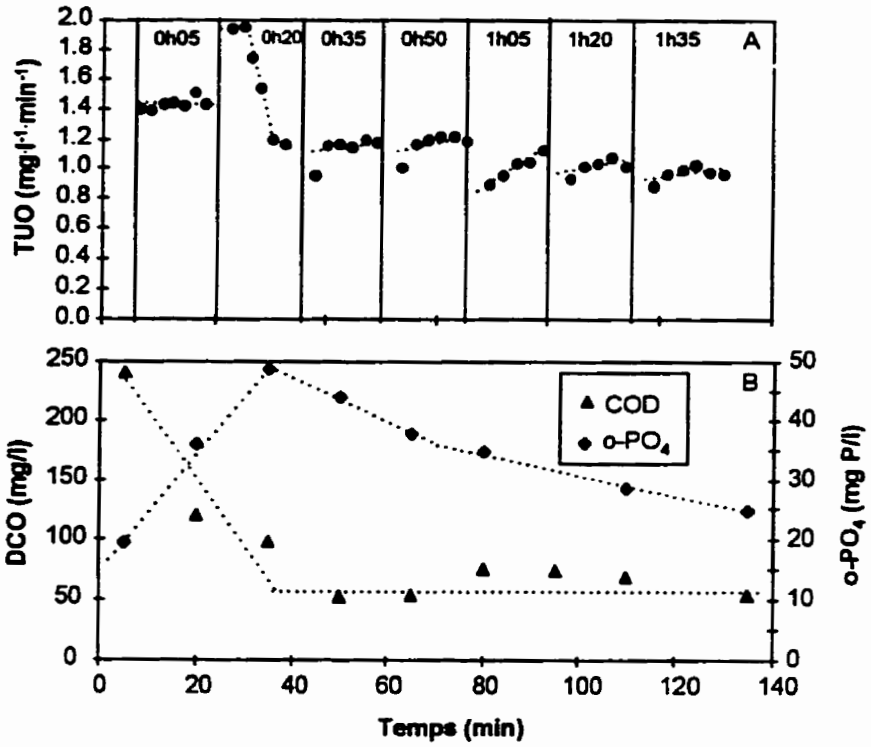


Figure A2.15 Opération d'un respiromètres pour la détection d'une chute dans le taux de consommation en oxygène dissous, correspondant à la fin du captage de la DCO rapidement biodégradable. Concentration en DCO à l'alimentation : 500 mg/l. Echantillonnage aux 15 minutes et aération de l'échantillon pendant 15 minutes. Consignes d'aération : 50% et 60% de la saturation en O.D.. Débit d'air : 0,012 l/s. A) TUO, B) DCO filtrée et o-PO_4 des échantillons recueillis dans le réacteur

ANNEXE III
AÉRATION DE SURFACE

Une consommation lente du phosphore a été observée au cours de la période anaérobie du procédé de déphosphatation biologique durant la période expérimentale. Cette consommation de phosphore a été associée au phénomène d'aération de surface. L'effet de l'aération de surface sur la dynamique du phosphore est présentée à la Figure A3.1. À deux reprises, 3 cycles consécutifs ont été suivis durant la période anaérobie. Dans les deux tests, les premier et troisième cycles étaient opérés de façon habituelles alors qu'au deuxième cycle, de l'azote gazeux (N_2) a été introduit en tête de réacteur afin d'éliminer l'aération de surface. Dans le cas où l'azote n'est pas introduit dans le réacteur, le relargage rapide de phosphore observé durant les 40 premières minutes de la période anaérobie est suivi d'une accumulation de phosphore. Avec l'ajout d'azote, cette accumulation n'est pas observé et un faible taux de relargage peut même être noté.

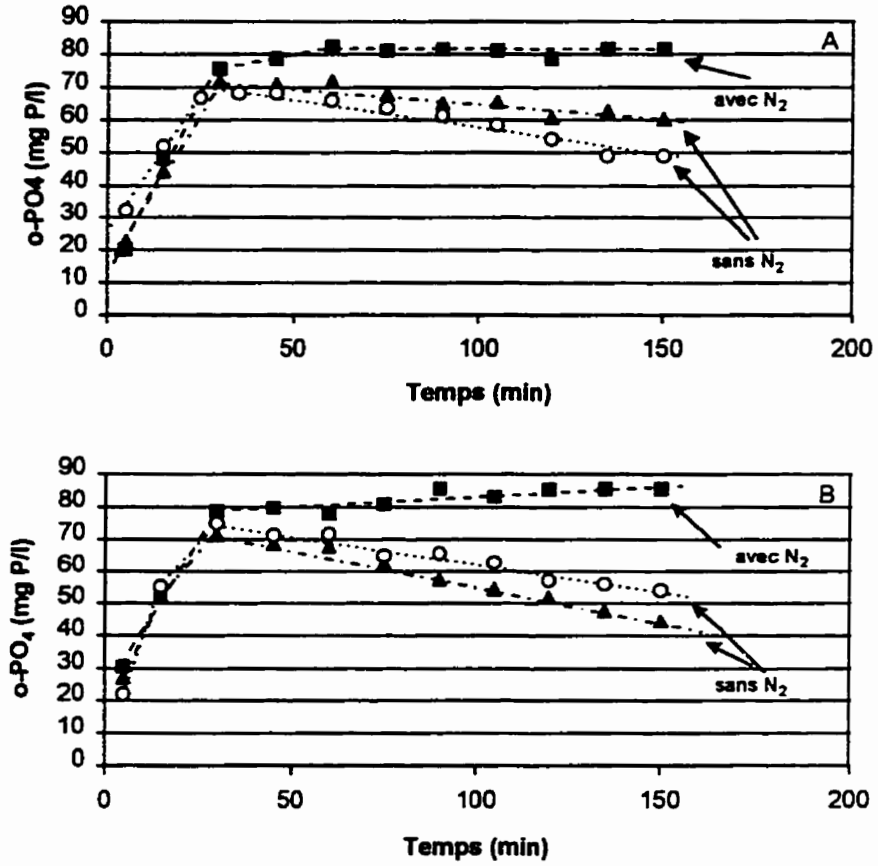


Figure A3.1 Effet de l'aération de surface sur la dynamique du phosphore au cours de la période anaérobie d'un procédé de déphosphatation biologique en réacteur biologique séquentiel. Réalisation du test pour A) et B) : 1er cycle sans N_2 (○), 2ième cycle avec N_2 (■) , 3ième cycle sans N_2 (▲). A) et B) ont été réalisés à 9 jours d'intervalle.

ANNEXE IV
PROGRAMMES DE SIMULATION

A4.1 Réponse de la sonde à oxygène dissous

Ce programme a servi à vérifier que le calcul des taux de consommation en oxygène dissous n'étaient pas affectés par la dynamique des sondes à oxygène dissous.

A4.1.1 Programme d'appel

```
clear;

global y

 y0 = [0 0 40 70];          % Vecteur des valeurs initiales pour la résolution du système
                            % d'équations différentielles


t0 = 0;                     % Temps initial de la simulation
tf = 20;                    % Temps final de la simulation
tol=1e-10;                  % Tolérence

[t1,y1] = ode45('kla1',t0,tf,y0,tol);        % Appel de la fonction ODE45 qui permet de résoudre
                                             % le système d'équations différentiel

% Attribution des résultats à une variable spécifique

C   = y1(:,1);              % C   =  concentration réelle en oxygène dissous
Cs  = y1(:,2);              % Cs  =  concentration donnée par la sonde
Cil = y1(:,3);              % Cil  =  consigne inférieure pour le contrôle de l'O.D.
Csl = y1(:,4);              % Csl  =  consigne supérieure pour le contrôle de l'O.D.

figure(1);          % Représentation graphique des résultats

plot(t1,C,t1,Cs,t1,Cbl,t1,Cul);
```

A4.1.2 Modèle d'aération (programme appelé)

```
function dydt=kla1(t,A);

global y

K=2.5;          % KLa d'aération forcée : 2,5 min-1

C   = A(1);
Cs  = A(2);
Cil = A(3);
Csl  = A(4);

DOmin=40;           % Consigne inférieure pour la concentraiton en oxygène dissous
DOmax=70;           % Consigne supérieure pour la concentraiton en oxygène dissous

Csat=100;           % Valeur de la saturation en oxygène dissous (100%)

Qo2=2;

if Cs<=DOmin & kla==K                   % Concentration en oxygène dissous diminue
                                        % Vérification pour le maintien de l'aération
kla=K;

elseif Cs >= DOmax & kla ~= 0           % Concentration en oxygène dissous augmente
                                        % Vérification pour l'arrêt de l'aération
kla = 0;

elseif Cs>=DOmax & kla==0               % Concentration en oxygène dissous diminue
                                        % Vérification pour le maintien de l'arrêt de l'aération
kla=0;

elseif (Cs>=DOmin) & (Cs<=DOmax) & (kla==0)        % Concentration en O.D. diminue
                                                   % Vérification pour le maintien
                                                   % de l'arrêt de l'aération
kla = 0;

elseif (Cs <=DOmin) & (kla == 0)        %Concentration en oxygène dissous diminue
                                        % Vérification pour le démarrage de l'aération
kla = K;

else (Cs>=DOmin) & (Cs<=DOmax) & (kla ~= 0);       % Concentration en O.D. augmente
                                                   % Vérification pour le maintien de
                                                   % l'aération
kla = K;

end
```

```
% Modèle du procédé (aération et consommation)

dCdt   =   0.11*(Csat-C) + kla.*(Csat-C)-Qo2/9.032*100;% Dynamique de l'oxygène dissous
dCsdt   = -(1./(28./60)).*(Cs-C);                      % Dynamique de la sonde à O.D.
dCildt=0;                                              % Consigne inférieure
dCsldt=0;                                              % Consigne supérieure

dydt=[dCdt dCsdt dCildt dCsldt]';

end
```

A4.2 Déphosphatation biologique (Modèle de Smolders et al., 1995)

Ce programme (algorithme de base) a été utilisé pour la réalisation des simulations dont les résultats sont présentés au chapitre 6. Le programme a été modifié en fonction des conditions d'opération étudiées.

A4.2.1 Programme d'appel

```
clear;

global y dSo2dt kla

V      =     0.0150;      % Volume du reacteur (l);
Q      =     0.0075;      % Volume alimenté (l);
TetaC  =     15.0;        % Temps de sejour cellulaire (j);

load a:\smoldsim\smodata1;   % Chargement des valeurs initiales pour les simulation

% Assignation des valeurs initiales aux variables du modèle
% et contenues dans le fichier smodata1.mat

Cs     =     y(2);        % concentration en acétate
Cp     =     y(3);        % concentration en phosphore
Cx     =     y(4);        % concentration en biomasse déphosphatante
Cphb   =     y(5);        % concentration en poly-β-hydroxybutyrate
Cpp    =     y(6);        % concentration en polyphosphate
Cgl    =     y(7);        % concentration en glycogène
Cn     =     y(8);        % concentration en azote ammoniacal
Co2    =     y(9);        % concentration en oxygène
Cco2   =     y(10);       % concentration en dioxyde de carbone
Cw     =     y(11);       % concentration en eau

% Composition de l'alimentation

CsF    =     9.375; %15.625;   % (F pour feed;  300 mg DCO/l = 9,375 mmol C/l)
                               % (              500 mg DCO/l = 15,625 mmol C/l))

CpF    =     0.645;           % (              20 mg P/l = 0,645 mmol P/l)
CxF    =     0;
CphbF  =     0;
CppF   =     0;
CglF   =     0;
CnF    =     2.0;             % (              28 mg N/l = 2 mmol N/l)
Co2F   =     0;
Cco2F  =     0;
CwF    =     0;
```

```
Result=y;

for Cycle = 0:1:10,        % Boucle de simulation

Qlm = V / TetaC / 3;       % Calcul du volume de liqueur mixte à purger pour
                           % le contrôle du temps de résidence cellulaire
l=length(Cs);

% Calcul des concentrations initiales dasn le réacteur au début du cycle après l'alimentation

CsD    = (Q.*Cs(l)       + Q.*CsF) ./ V;
CpD    = (Q.*Cp(l)       + Q.*CpF) ./ V;
CxD    = ((V-Qlm).*Cx(l)+ Q.*CxF) ./ V;
CphbD  = ((V-Qlm).*Cphb(l)+ Q.*CphbF) ./ V;
CppD   = ((V-Qlm).*Cpp(l)        + Q.*CppF) ./ V;
CglD   = ((V-Qlm).*Cgl(l)        + Q.*CglF) ./ V;
CnD    = (Q.*Cn(l)       + Q.*CnF) ./ V;
Co2D   = 0;%(Q.*Co2(l)           + Q.*Co2F) ./ V;
Cco2D  = (Q.*Cco2(l)     + Q.*Cco2F) ./ V;
CwD    = (Q.*Cw(l)       + Q.*CwF) ./ V;

% Vecteur des valeurs initiales pour la simulation

yD = [CsD CpD CxD CphbD CppD CglD CnD Co2D Cco2D CwD];

t0 = (Cycle*8);            % Temps initial de simulation
tf = (Cycle*8+3);          % Temps final de simulation
tol=1.e-6;                 % Tolérence

% Appel de la fonction ode45 qui permet de résoudre le système d'équation diff.
% smolan.m est le programme appelé par ode45 et contient le modèle anaérobie proposé par
Smolders et al (1995)

[t1,y1] = ode45('smolan',t0,tf,yD,tol);

% Vecteur des valeurs initiales servant lors de l'appel d'ode45
% pour la résolution du modèle aérobie; Ce vecteur est constitué
% des valeurs finales obtenues lors de la simulation de la période anaérobie

yD = y1(size(y1,1),:);

kla=100;          % coefficient de transfert d'oxygène (h^-1)

t0 = (Cycle*8+3);
tf = (Cycle*8+6.5);

[t2,y2] = ode45('smolae',t0,tf,yD,tol);

yD = y2(size(y2,1),:);


t0 = (Cycle*8+6.5);
```

```
tf = (Cycle*8+8.0);
[t3,y3] = ode45('smolse',t0,tf,yD,tol);

t = [t1;t2;t3];
y = [y1;y2;y3];

Result = [ Result ; [t y]];

% Assignation des résultats obtenus aux différentes variables du modèle

Cycle           % Affichage du cycle simulé à l'écran

t       =       Result(:,1);
Cs      =       Result(:,2);
Cp      =       Result(:,3);
Cx      =       Result(:,4);
Cphb    =       Result(:,5);
Cpp     =       Result(:,6);
Cgl     =       Result(:,7);
Cn      =       Result(:,8);
Co2     =       Result(:,9);
Cco2    =       Result(:,10);
Cw      =       Result(:,11);

end             % Fin de la boucle for Cycle=0 :1 :10

% Création d'un vecteur (y) contenant les valeurs finales des variables à la fin de la simulation

y       =       [0 Result(length(Result),2:11)];

% Sauvegarde du contenu du vecteur y qui servira de valeurs initiales pour la simulation
% suivante avec les mêmes conditions d'opération

save a:\smoldsim\smodata1 y;

figure(1);      % Affichage des résultats de simulation sous forme de graphique

subplot(3,2,1);
plot(t,Cs.*30);
xlabel('Time (h)');
ylabel('COD (mg/l)');

subplot(3,2,3);
plot(t,Cp.*31);
xlabel('Time (h)');
ylabel('o-PO4 mg P/l');

subplot(3,2,5);
plot(t,Cphb.*21.5);
xlabel('Time (h)');
ylabel('PHB (mg/l)');
subplot(3,2,2);
```

```
plot(t,Cx.*26);
xlabel('Time (h)');
ylabel('Bio-p bacteria (mg/l)');

subplot(3,2,4);
plot(t,Co2.*32);
xlabel('Time (h)');
ylabel('D.O. (mg/l)');
axis([0 t(length(t)) 0 10]);

subplot(3,2,6);
plot(t,Cgl.*27);
xlabel('Time (h)');
ylabel('Glycogen (mg/l)');
```

A4.2.2 Période anaérobie (programme appelé)

```
function dCdt=smolder1(t,C);

Cs    = C(1);
Cp    = C(2);
Cx    = C(3);
Cphb  = C(4);
Cpp   = C(5);
Cgl   = C(6);
Cn    = C(7);
Co2   = C(8);
Cco2  = C(9);
Cw    = C(10);

% Rapports de la matière emmagasinée sur la biomasse active...;

fphb  = Cphb ./ Cx;
fpp   = Cpp  ./ Cx;
fgl   = Cgl  ./ Cx;

% Paramètres cinétiques du modèle anaérobie

qsmax = 0.4;            % C-mole/C-mole/h;
man   = 2.5e-3;         % P-mole/C-mole/h;
Ks    = 1;              % C-mmole/l;

% Modèle dynamique en période anaérobie

dCsdt   = - qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) .* Cx;
dCpdt   = (0.44 * qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) + man) .* Cx;
dCxdt   = 0;
dCphbdt = 1.33 * qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) .* Cx;
dCppdt  = ( -0.44 * qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) - man) .* Cx;
dCgldt  = -0.5 * qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) .* Cx;
dCndt   = 0;
dCo2dt  = 0;
dCco2dt  = 0.17 * qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) .* Cx;
dCwdt   = (-0.023 * qsmax .* (Cs ./ (Cs + Ks)) - man) .* Cx;

dCdt=[dCsdt dCpdt dCxdt dCphbdt dCppdt dCgldt dCndt dCo2dt dCco2dt dCwdt]';

end
```

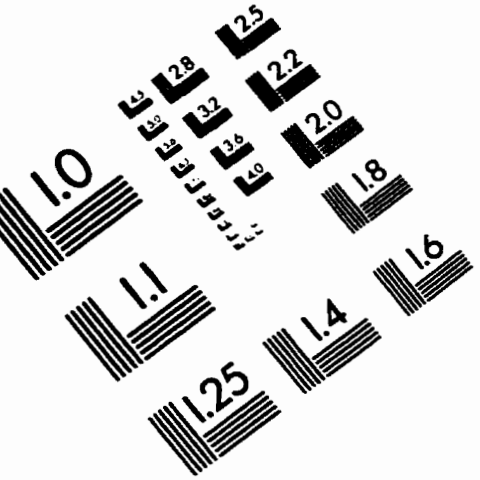
A4.2.3 Période aérobie (programme appelé)

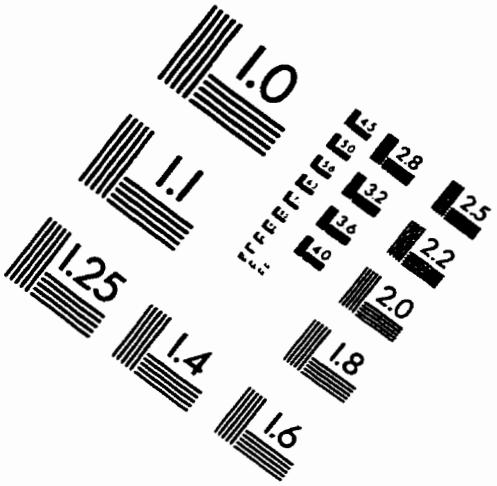
```
function dCdt=smolder1(t,C);

global y dCo2dt kla

Cs   = C(1);
Cp   = C(2);
Cx   = C(3);
Cphb = C(4);
Cpp  = C(5);
Cgl  = C(6);
Cn   = C(7);
Co2  = C(8);
Cco2 = C(9);
Cw   = C(10);

% Rapports : matières emmagasinées sur biomasse active

fphb  = Cphb ./ Cx;
fpp   = Cpp  ./ Cx;
fgl   = Cgl  ./ Cx;

% Paramètres cinétiques du modèle aérobie

kx        = 0.14;        % C-mole/C-mole/h;
kpp       = 0.55;        % P-mole/C-mole/h;
Kp        = 0.1;         % P-mole/l;
Fppmax    = 0.3;         % P-mole/C-mole;
kgl       = 0.8;         % C-mole/C-mole/h;
fglmax    = 0.27;        % C-mole/C-mole;
maer      = 4e-3;        % C-mole/C-mole/h;

%       Modèle dynamique en période aérobie

dCsdt   = 0;
dCpdt   = (-0.015 .* kx .* fphb - kpp .* (Cp ./ (Cp + Kp)) .* (1 - fpp ./ fppmax) .* fphb) .* Cx;
dCxdt   = kx .* fphb .* Cx;
dCphbdt = (-1.37 .* kx .* fphb - 0.27 * kpp .* (Cp ./ (Cp + Kp)) .* (1 - fpp ./ fppmax) .* fphb
                - 1.12 .* kgl .* (fglmax - fgl) - maer) .* Cx;
dCppdt  = kpp .* (Cp ./ (Cp + Kp)) .* (1 - fpp ./ fppmax) .* fphb .* Cx;
dCgldt  = kgl .* (fglmax - fgl) .* Cx;
dCndt   = -0.2 .* kx .* fphb .* Cx;
dCo2dt  = 60.*(0.281-Co2) + (-0.42 .* kx .* fphb - 0.31 * kpp .* (Cp ./ (Cp + Kp))
                .* (1 - fpp ./ fppmax) .* fphb - 0.26 .* kgl .* (fglmax - fgl) - 1.125 .* maer) .* Cx;
dCco2dt = (0.37 .* kx .* fphb + 0.27 * kpp .* (Cp ./ (Cp + Kp)) .* (1 - fpp ./ fppmax) .* fphb
                + 0.12 .* kgl .* (fglmax - fgl) + maer) .* Cx;
dCwdt   = (0.30 .* kx .* fphb + 1.20 * kpp .* (Cp ./ (Cp + Kp)) .* (1 - fpp ./ fppmax) .* fphb
                + 0.007 .* kgl .* (fglmax - fgl) + 0.75 .*maer) .* Cx;
dCdt=[dCsdt dCpdt dCxdt dCphbdt dCppdt dCgldt dCndt dCo2dt dCco2dt dCwdt]';
end
```

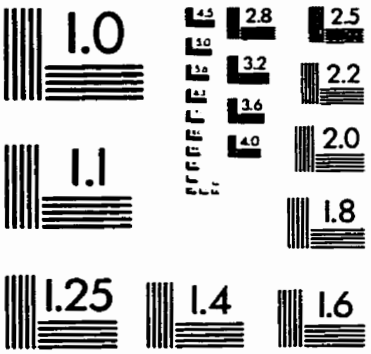
A4.2.4 Période de sédimentation

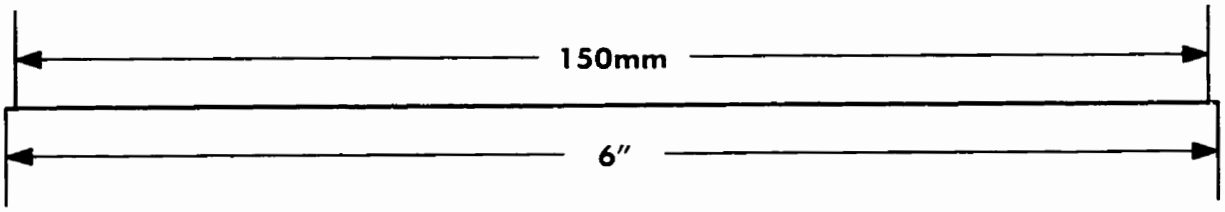
```
function dCdt=smolder1(t,C);

Cs      = C(1);
Cp      = C(2);
Cx      = C(3);
Cphb    = C(4);
Cpp     = C(5);
Cgl     = C(6);
Cn      = C(7);
Co2     = C(8);
Cco2    = C(9);
Cw      = C(10);

% Modèle en période de sédimentation.;

dCsdt     = 0;
dCpdt     = 0;
dCxdt     = 0;
dCphbdt   = 0;
dCppdt    = 0;
dCgldt    = 0;
dCndt     = 0;
dCo2dt    = 0;
dCco2dt   = 0;
dCwdt     = 0;

dCdt=[dCsdt dCpdt dCxdt dCphbdt dCppdt dCgldt dCndt dCo2dt dCco2dt dCwdt]';

end
```

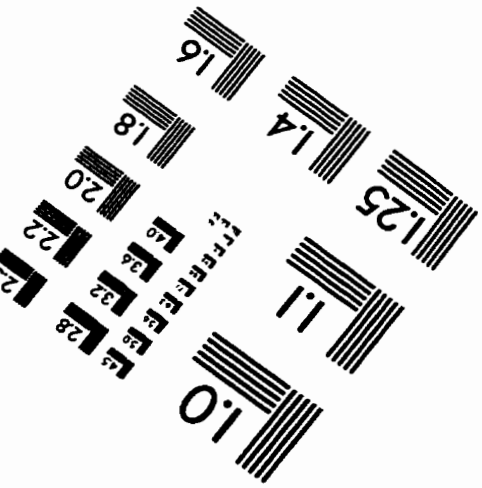
IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)

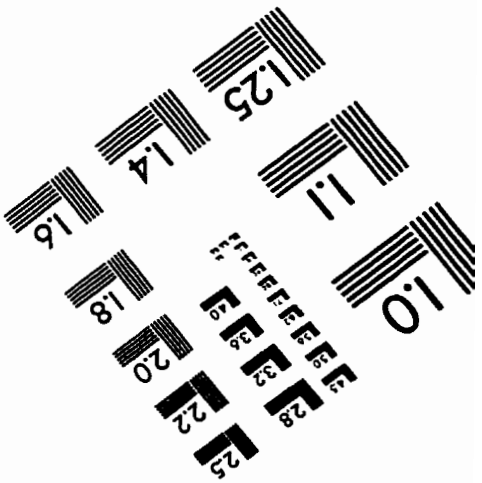










APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved