



HAL
open science

Caractérisation de la Matière Organique Dissoute (DOM) et de ses interactions avec une séparation par membrane pour l'amélioration du contrôle des BioRéacteurs à Membranes (BàM)

Céline Jacquin

► **To cite this version:**

Céline Jacquin. Caractérisation de la Matière Organique Dissoute (DOM) et de ses interactions avec une séparation par membrane pour l'amélioration du contrôle des BioRéacteurs à Membranes (BàM). Génie des procédés. Université Montpellier, 2017. Français. NNT : 2017MONTT063 . tel-01704557

HAL Id: tel-01704557

<https://theses.hal.science/tel-01704557>

Submitted on 8 Feb 2018

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

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

THÈSE

Pour obtenir le grade de Docteur

Délivré par l'UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

Préparée au sein de l'école doctorale
GAIA (n° 584)

Et de l'unité de recherche **Institut Européen des Membranes, UMR 5635**
(CNRS - ENSCM - UM)

Spécialité: **Génie des procédés**

Présentée par **Céline JACQUIN**

**Caractérisation de la Matière Organique Dissoute
(DOM) et de ses interactions avec une séparation par
membrane, pour l'amélioration du contrôle des
BioRéacteurs à Membranes (BàM)**

Soutenue le 06 octobre 2017 devant le jury composé de

CHRISTOPHE DAGOT, Professeur des universités Président du jury
UMR INSERM - Université de Limoges

NICOLAS DERLON - Directeur de recherche Membre du jury
EAWAG - Suisse

GEOFFROY LESAGE - Maître de conférences Membre du jury
IEM - Université de Montpellier

BENOIT TEYCHENE - Maître de conférences Membre du jury
IC2MP - Université de Poitiers

CHRISTELLE GUIGUI - Professeur des universités Rapporteur
LISBP - INSA Toulouse

MARC HERAN - Professeur des universités Directeur de Thèse
IEM - Université de Montpellier



Résumé

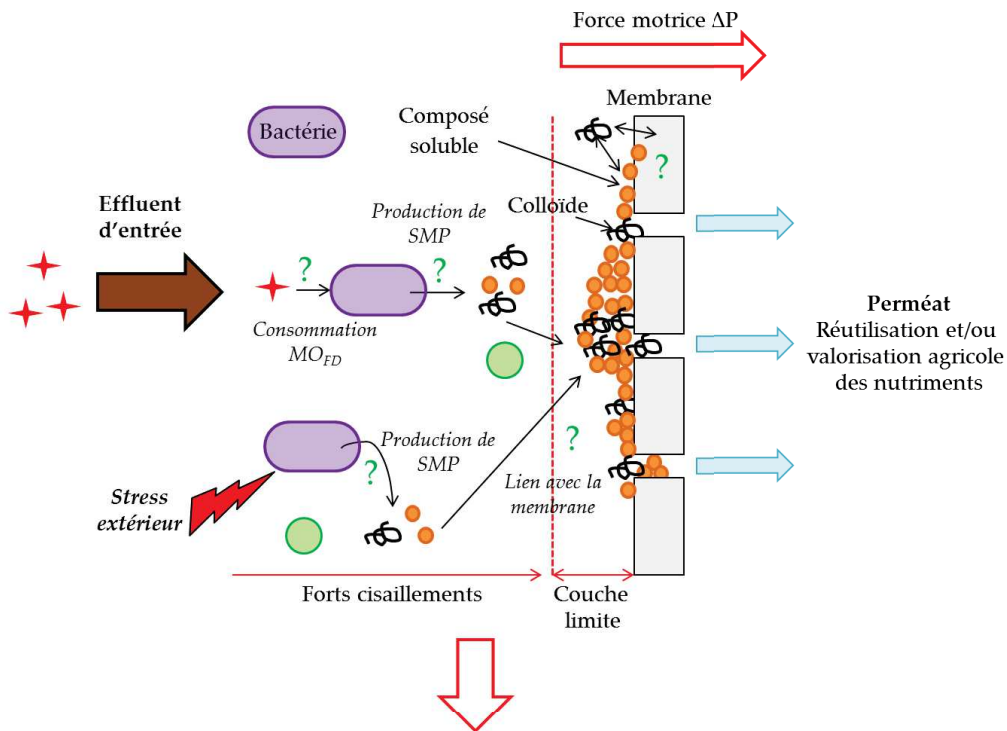
Le BioRéacteur à Membranes (BàM) est une technologie qui répond à l'un des défis du 21ème siècle : la réutilisation des eaux usées. En combinant un traitement biologique et une filtration membranaire, ce procédé permet d'atteindre une qualité d'eau adaptée à la réutilisation, en permettant une rétention poussée des Matières En Suspension (MES) et bactéries. Néanmoins, son essor économique est fortement limité par le colmatage membranaire qui, quand le système est optimisé, est dû principalement à la Matière Organique Dissoute (DOM). Ainsi, le but de cette thèse était de comprendre l'implication de la DOM dans les mécanismes de colmatage et de développer des indicateurs permettant son suivi dans le procédé, que ce soit à l'échelle pilote ou à l'échelle d'une station d'épuration. Une approche en quatre étapes successives a ainsi été élaborée. Dans un premier temps, la DOM prélevée dans une station d'épuration BàM a été fractionnée suivant des critères de taille et d'hydrophobicité, en utilisant une dialyse et des résines XAD, puis filtrée. Les tests de filtration montrent que la fraction des colloïdes hydrophiles (protéines) et la fraction hydrophobe (substances humiques) sont respectivement responsables du colmatage externe et interne. En mélangeant les fractions, la chute de flux est plus importante et le colmatage plus irréversible que lorsque les espèces étaient seules en solution. La fluorescence 3D (3DEEM) a ensuite été utilisée pour identifier et suivre ces fractions lors du traitement biologique et de la séparation membranaire. Le signal qualitatif de la 3DEEM a été calibré en utilisant une méthode de séparation et de quantification de la DOM par taille : la LC-OCD-OND. Ce nouvel aspect de l'exploitation des résultats de 3DEEM a été testé et validé pour le suivi de la DOM lors du traitement par BàM d'effluents domestiques et urines réelles. D'autres indicateurs, comme la concentration en biomasse active estimée par respirométrie, ont été utilisés afin de mettre en évidence des interactions entre les paramètres opératoires, l'évolution de la DOM et son caractère colmatant. L'approche développée au cours de cette thèse a permis de mettre en évidence une façon d'exploiter quantitativement les résultats de 3DEEM, pour le suivi de l'activité de la biomasse active, comme pour le suivi de l'impact de la DOM sur

le colmatage, apportant ainsi des informations complémentaires sur l'impact de la DOM dans le procédé. La 3DEEM et le traitement croisé des spectres obtenus confirment l'intérêt et la potentialité de cette technique analytique comme indicateur en temps réel du suivi, du contrôle et de l'optimisation de l'étape de séparation.

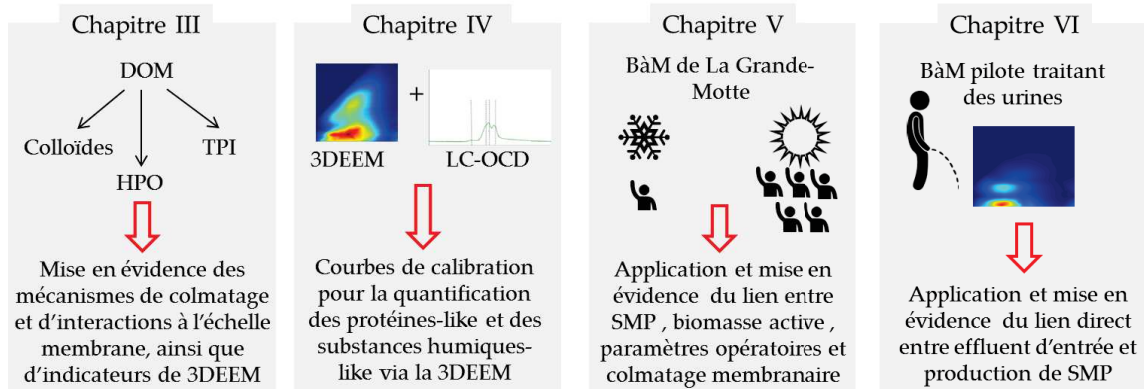
Abstract

Membrane Bioreactor (MBR) technology is well-suited to help address the reuse of wastewater, one of the most important challenges of the 21st century. Combining biological treatment with a membrane separation step, MBR produces reusable water from physical disinfection. Nevertheless, the democratization of this process is limited by membrane fouling which is primarily caused by Dissolved Organic Matter (DOM) even when the system is optimized. The purpose of this thesis was to understand the role of DOM in fouling mechanisms and develop indicators suitable for the monitoring of the process, at lab-scale or full-scale MBR to help control it. To do so, a four step approach was developed. DOM was first sampled in a full-scale MBR and subsequently fractionated by size and hydrophobicity. After filtration tests, hydrophilic colloid fractions (proteins) were identified as responsible for external fouling and hydrophobic fraction for internal fouling. Mixed fraction filtrations led to a higher loss of permeability and irreversible fouling, in comparison to single fractions. For fouling control, a solution may be to control DOM production with the MBR. To investigate this, 3DEEM was used for the identification of DOM compounds. By combining this technique, usually used for qualitative analysis, with a size separation and quantification method (LC-OCD), it was demonstrated that 3DEEM can be used to quantify the concentration of DOM compounds. Based on this observation, 3DEEM was used to monitor DOM in a lab-scale MBR treating source-separated urines, and a full-scale MBR, treating domestic wastewater. 3DEEM was combined with other methods and indicators, such as operating parameters and active biomass concentration estimated using respirometric assays. The approach that was developed highlighted a procedure for the quantitative monitoring of active biomass and membrane fouling using 3DEEM. This emphasizes the potential for the on-line application of 3DEEM for more affordable monitoring, control and optimization of the membrane separation step.

Résumé graphique de la thèse



Comment identifier ces composés, comprendre leur chemin réactionnel et leurs interactions avec la membrane ?



Production scientifique

Publications

- [1] Jacquin, C., Lesage, G., Traber, J., Pronk, W., and Heran, M. (2017). Three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence (3DEEM) for quick and pseudo-quantitative determination of protein- and humic-like substances in full-scale membrane bioreactor (MBR). *Water Research*, 118, 82-92.
- [2] Jacquin, C., Teychene, B., Lesage, G., Lemee, L., and Heran, M. Characteristics and fouling behaviors of Dissolved Organic Matter (DOM) fractions in a full-scale submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Soumise à Biochemical Engineering Journal*.
- [3] Jacquin, C., Gambier, N., Lesage, G. and Heran, M. New insight into the fate and fouling behavior of bulk Dissolved Organic Matter (DOM) in a full-scale membrane reactor for domestic wastewater treatment. *Soumise à Journal of Water Process Engineering*.
- [4] Jacquin, C., Monnot, M., Hamza, R., Kouadio, Y., Zaviska, F., Merle, T., Lesage, G., and Heran, M. Source-separated urine nitrification using a Membrane BioReactor : performances, biomass acclimation and Dissolved Organic Matter (DOM) transformation. *Soumise à Chemical Engineering Journal*.

Communications orales

- [1] Jacquin, C., Lesage, G. and Heran, M. How to tune DOM identification and characterization to enhance activated sludge filtration and minimize membrane fouling. 10th European Congress of Chemical Engineering, September 27th – October 1st, 2015, Nice, France.
- [2] Jacquin, C., Lesage, G. et Heran, M. Traitement des eaux usées par Bioréacteurs à Membranes en format MT180, 2ème Journée des Doctorants IM2E, 22 - 23 mars 2016, Montpellier, France.
- [3] Jacquin, C., Lesage, G. et Heran, M. La Matière Organique Dissoute au sein des Bioréacteurs à Membranes : caractérisation et implication dans le colmatage membranaire, Journée des Doctorants du CFM, 7 avril 2016, Paris, France.
- [4] Jacquin, C., Teychené, B., Lesage, G. and Heran, M. How to tune Dissolved Organic Matter characterization to understand membrane fouling in MBR processes. 5th IWA Regional Conference on Membrane Technology 2016, August 22nd – 24th, 2016, Kunming, China. Second Prize for the Best Student Presentation.

-
- [5] Jacquin, C., Teychené, B., Lesage, G. et Heran, M. Fractionnement de la Matière Organique Dissoute du surnageant de BâM : Une perspective de compréhension des mécanismes de colmatage. 11ème congrès international du GRUTTEE 2016, 11th – 13th october 2016, Poitiers, France.

Abréviations

Lettres grecques

α	Résistance spécifique	m/kg
$\Delta\lambda_{em}$	Pas d'acquisition en émission	nm
$\Delta\lambda_{ex}$	Pas d'acquisition en excitation	nm
ΔP	Pression transmembranaire	Pa
ϵ	Absorptivité molaire	L/mol/cm
λ_{em}	Longueur d'onde en émission	nm
λ_{ex}	Longueur d'onde en excitation	nm
μ	Viscosité de la suspension	Pa.s
$\mu(20\text{ °C})$	Viscosité de la suspension à 20 °C	Pa.s
$\mu(T)$	Viscosité de la suspension à température ambiante	Pa.s
μ_{max}	Taux de croissance bactérienne	1/j
$\Phi(i)$	Volume sous la courbe dans la région (i)	R.U.nm ²
φ	Rendement quantique	-

Abréviations en français

A	Surface de la membrane	m ²
Aire _{region(i)}	Aire de la région (i)	nm ²
Aire _{tot3DEEM}	Aire totale du spectre	nm ²
b _{AOB}	Coefficient de décès des bactéries AOB	0,15 1/j
b _H	Coefficient de décès des bactéries hétérotrophes	0,20 1/j
b _{NOB}	Coefficient de décès des bactéries NOB	0,15 1/j
BàM	BioRéacteur à Membranes	-
BP _{OCD}	Concentration en COD dans la fraction BP	mgC/L
BP _{OND}	Concentration en NOD dans la fraction BP	mgN/L
BS _{MBR}	Echantillon de surnageant pris en dans le BàM	-
BS'-MBR1	Echantillon complémentaire de surnageant prélevé dans le réacteur R4 de La Grande-Motte	-

BS-CAS	Echantillon de surnageant prélevé dans la STEP de Saint Clément de Rivière	-
BS-labMBR	Echantillon de surnageant prélevé dans un Bàm à l'échelle pilote alimenté par une solution synthétique	-
BS-MBR1	Echantillons de surnageant prélevés dans le réacteur R4 de La Grande-Motte	-
BS-MBR2	Echantillon de surnageant prélevé dans le Bàm de Baillargues	-
C	Fraction contenant les colloïdes retenus par dialyse	-
C/N	Ratio des concentrations en carbone et en azote	-
C _F	Facteur de concentration (SRT/HRT)	-
CAS	STEP de Saint Clément de Rivière	-
CC _n	Premier jour après le lavage chimique	j
CC _{n+1}	Dernier jour avant le lavage chimique suivant	j
CCS _{MBR}	Echantillon de solution de lavage (HCl) récolté à La Grande-Motte	-
COD	Carbone Organique Dissous	mgC/L
COP	Carbone Organique Particulaire	mgC/L
COT	Carbone Organique Total	mgC/L
Débit _{résines}	Débit d'alimentation des résines	L/h
E-CAS	Echantillon d'effluent prélevé en sortie de la STEP de Saint Clément de Rivière	-
f ₄₅₀ /f ₅₀₀	Indicateur de 3DEEM de l'origine de la DOM	-
f _{xi}	Fraction de COD inerte généré par la lyse de la biomasse	0,2
FA+HA-like	Fluorophores localisés dans la Région III+V	-
FA+HA-like _{3DEEM}	Volume de fluorescence calculé dans la Région III+V	R.U.nm ²
FA-like	Fluorophores localisés dans la Région III (acides fulviques)	-
FA-like _{3DEEM}	Volume de fluorescence calculé dans la Région III	R.U.nm ²
HA-like	Fluorophores localisés dans la Région V (acides humiques)	-
HA-like _{3DEEM}	Volume de fluorescence calculé dans la Région V	R.U.nm ²
HPO	Fraction Hydrophobe	-
HS+BB	Substances humiques et building blocks	-
HS+BB _{OCD}	Concentration en COD dans la fraction HS+BB	mgC/L
I(λ_{ex} , λ_{em})	Intensité de fluorescence du couple excitation/emission	A.U ou R.U
I ₀	Intensité de la lumière	A.U
I _f	Nombre de protons émis	-

J	Flux de perméat	$\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$
J(20 °C)	Flux de perméat à 20 °C	$\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$
J(T)	Flux de perméat à température ambiante	$\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$
J ₀	Flux de perméat initial	$\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$
(J/J ₀) _n	Flux normalisé à 200L/m ² calculé pour la filtration avant lavage	-
(J/J ₀) _{n+1}	Flux normalisé à 200L/m ² calculé pour la filtration après lavage	-
K	Facteur correspondant à $\varphi \times I_0 \times \epsilon \times l$	-
l	Chemin optique de la lumière	cm
L _p (20 °C)	Perméabilité membranaire à 20 °C	$\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}/\text{Pa}$
labMBR	BàM à l'échelle pilote alimenté par une solution synthétique	-
LGM	La Grande-Motte	-
LMW-A _{OCD}	Concentration en COD dans la fraction LMW-A	mgC/L
LMW-N _{OCD}	Concentration en COD dans la fraction LMW-N	mgC/L
m ₁	Masse du filtre après filtration et passage à l'étuve	g
m ₂	Masse du filtre après filtration, passage à l'étuve et au four	g
m _{bacwashed}	Masse de carbone dans la solution de rétrolavage	mgC
m _{filtre}	Masse du filtre neuf	g
m _{initial}	Masse de carbone de la solution filtrée	mgC
m _{irreversible}	Masse de carbone irréversible déposée sur la membrane	mgC
m _{permeate}	Masse de carbone dans le perméat de filtration	mgC
m _{relaxed}	Masse de carbone dans la solution de relaxation (relaxed)	mgC
m _{solution}	Masse de carbone dans la solution	mgC
MBR1	BàM de La Grande-Motte	-
MBR2	BàM de Baillargues	-
MES	Matières en Suspension	g/L
MF	MicroFiltration	-
MF(i)	Facteur de normalisation	
MO _{FD}	Matière Organique Facilement Dégradable	
MR	Rétention membranaire des composés de la DOM (HS+BB ou Proteins from BP)	%
MVS	Matières Volatiles en Suspension	g/L
NF	NanoFiltration	-
NOD	Azote Organique dissous	mgN/L
OI	Osmose Inverse	-
OUR _{H+AOB}	OUR résultant de la respiration des hétérotrophes et des AOB	mgO ₂ /L/h
OUR _{H+NOB}	OUR résultant de la respiration des hétérotrophes et des NOB	mgO ₂ /L/h

OUR _{tot}	OUR endogène de la biomasse active totale	mgO ₂ /L/h
P _{amont}	Pression mesurée à l'amont de la membrane	Pa
P _{MBR}	Echantillon de perméat pris en sortie de Bàm	
P _{perméat}	Pression mesurée dans le perméat	Pa
P'-MBR1	Echantillon complémentaire de perméat prélevé en sortie de réacteur R4 de La Grande-Motte	-
Phe	Phénylalanine	-
P-labMBR	Echantillon de perméat prélevé en sortie d'un Bàm à l'échelle pilote alimenté par une solution synthétique	-
P-MBR1	Echantillons de perméat prélevés en sortie de réacteur R4 de La Grande-Motte	-
P-MBR2	Echantillon de perméat prélevé en sortie du Bàm de Baillargues	-
PN _{Lowry}	Concentration des protéines quantifiées par la méthode de Lowry modifiée	mgC/L
Prot1+2-like	Fluorophores localisés dans la Région I+II (Tyrosine)	
Prot1+2-like _{3DEEM}	Volume de fluorescence calculé dans la Région I+II	R.U.nm ²
Proteins from BP	Protéines quantifiées dans la fraction BP	-
Proteins in BP	Pourcentage de protéines dans la fraction BP	%
PS _{Dubois}	Concentration des polysaccharides quantifiés par la méthode de Dubois	mgC/L
PTM	Pression Transmembranaire	Pa
Q _i	Débit d'entrée	m ³ /j
Q _p	Débit de perméat	m ³ /j
Q _w	Débit d'extraction des boues	m ³ /j
r	Vitesse de production des composés de la DOM (HS+BB ou Proteins from BP)	mg/L/h
R _{ads}	Résistance due aux processus d'adsorption	1/m
R _{bio}	Résistance du biofilm	1/m
R _{bp}	Résistance due au blocage de pores	1/m
R _d	Résistance du gâteau de filtration	1/m
R _f	Résistance de colmatage calculée avec la résistance spécifique	1/m
R _m	Résistance de la membrane	1/m
R _{MBR}	Spectre de 3DEEM correspondant à la fraction retenue par la membrane, obtenu par calcul	-
R _{min}	Rayon minimal d'une molécule d'après la relation d'Erickson	

R_{RIS}	Résistance du modèle des resistances en series (RIS)	1/m
S	Concentration de l'espèce filtrée	kg/m ³
S_{DCO}	Concentration en DCO en entrée de station	mgDCO/m ³ /j
S_f	concentration en fluorophores	L/mol
S_N	Concentration de NH ₄ ⁺ en entrée de station	mgN/m ³ /j
SMP-like	Fluorophores localisés dans la Région IV (Tryptophane)	-
SMP-like _{3DEEM}	Volume de fluorescence calculé dans la Région IV	R.U.nm ²
STEP	Station d'Épuration	-
SUVA ₂₅₄	Ratio de l'absorbance UV à 254 nm et le COT	L/mgC/m
T	Température	°C
t	temps de filtration	s
$t_{résines}$	Temps de passage sur la résine	1 h
TPI	Fraction Transphilique	-
Trp	Tryptophane	-
Tyr	Tyrosine	-
UF	UltraFiltration	-
UV ₂₅₄	Absorbance UV à 254 nm	1/m
V	Volume filtré à l'instant t	m ³
V_b	Volume total des bassins	m ³
$V_{échantillon}$	Volume d'échantillon filtré pour la mesure	L
$V_{résines}$	Volume du lit de résines	L
V_s	Volume de la solution	L
$V_{spécifiquefiltré}$	Volume filtré spécifique	m ³ /m ²
X_{AOB}	Concentration en bactéries AOB	g/L
X_H	Concentration en bactéries hétérotrophes	g/L
X_{NOB}	Concentration en bactéries NOB	g/L

Abréviations en anglais

¹³ C NMR	Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance	-
3DEEM	Three-Dimensional Excitation and Emission fluorescence Matrix	-
A.U	Arbitrary Unit	-
AA	Amino Acids	-
AOB	Ammonium Oxidizing Bacteria	-
AS	Activated Sludge	-
ASM3	Activated Sludge Model n °3	-
BAP	Biomass-Associated Products	-
BB	Building Blocks	-
BIX	Biological Index	-
BP	Biopolymers	-
BPC	Biopolymer Clusters	-
BS	Bulk Supernatant	-
BSA	Bovine Serum Albumine	-
BWS	Backwashing	-
CAS	Conventional Activated Sludge	-
CC	Chemical Cleaning	-
COD	Chemical Organic Demand	mgO ₂ /L
COD/TN	ratio between COD and TN in urine	-
DOC	Dissolved Organic Carbon	mgC/L
DOM	Dissolved Organic Matter	-
DON	Dissolved Organic Nitrogen	mgN/L
EPS	Extracellular Polymeric Substances	-
F/M	Food to Microorganisms ratio	kgCOD/kgMLVSS/d
FRI	Fluorescence Regional Integration	-
FTIR	Fourier Transform Infrared	-
HIX	Humification Index	-
HPLC-SEC	High Performance Liquid Chromatography Coupled with Size Exclusion Chromatography	-
HRT	Hydraulic Retention Time	d
HS	High Season	-
HS	Humic Substances	-
IHHS	International Humic Substance Society	-
LC	Liquid Chromatography	-
LC-OCD-OND-UVD	Liquid Chromatography coupled with Organic Carbon, Organic Nitrogen and UV Detectors	-
LMW	Low Molecular Weight	-
LMW-A	Low Molecular Weight Acids	-
LMW-N	Low Molecular Weight Neutrals	-

LS	Low Season	-
MBR	Membrane BioReactor	-
MLSS	Mixed Liquor Suspended Solids	g/L
MLVSS	Mixed Liquor Volatile Suspended Solids	g/L
MW	Molecular Weight	Da
MWCO	Molecular Weight Cut-Off	-
NIST	National Institute of Standards and Technology	-
NL	Nitrogen Load	kgCOD/m ³
NOB	Nitrite Oxidizing Bacteria	-
NOM	Natural Organic Matter	-
OL	Organic Load	kgN/m ³
OLR	Organic Loading Rate	kgCOD/m ³ /d
OMP	Organic MicroPollutants	-
OUR	Oxygen Uptake Rate	mgO ₂ /L/h
P	Permeate	-
PARAFAC	Parallel Factor Analysis	-
PCA	Principal Component Analysis	-
PN	Proteins	-
PS	Polysaccharides	-
PVDF	PolyVinylidene Fluoride	-
PVP	PolyVinylPyrrolidone	-
Pyr-GC/MS	Pyrolysis coupled with Gas Chromatography and Mass Spectroscopy	-
QL	Quantification Limit	-
RIS	Resistances In Series	-
RL	Relaxation	-
RO	Reverse Osmosis	-
RSD	Relative Standard Deviation	-
SEM	Scanning electron microscopy	-
SMP	Soluble Microbial Products	-
SMU	Kubota Submerged Unit Membrane model	-
SRT	Sludge Retention Time	d
TEP	Transparent ExoPolymer Particles	-
THM-GC/MS	THerMo-chemolysis coupled with Gaz Chromatography and Mass Spectroscopy	-
TMAH	TetraMethyl Ammonium Hydroxyde	-
TN	Total Nitrogen	mgTN/L
TOC	Total Organic Carbon	mgC/L
TR	Transitory period	-
UAP	Utilization-Associated Products	-
UrDOM	Urine Dissolved Organic Matter	-
WWT	WasteWater Treatment	-
WWTP	WasteWater Treatment Plant	-

Table des matières

Table des matières	xiv
Liste des figures	xix
Liste des tables	xxiii
Introduction générale	3
I Synthèse bibliographique	7
1 Les Bioréacteurs à Membranes	9
2 Le colmatage membranaire	11
2.1 Principe du colmatage membranaire et mesure macroscopique	11
2.1.1 Polarisation de concentration	12
2.1.2 Colmatage externe	12
2.1.3 Colmatage interne	13
2.1.4 Formation d'un biofilm	13
2.1.5 Quantification macroscopique	14
2.2 Colmatage membranaire réversible et irréversible	15
2.3 Familles de composés et colmatage membranaire	17
2.3.1 Classification des composés des boues activées	17
2.3.2 Colmatage par la fraction organique particulaire	17
2.3.3 Colmatage par la fraction organique dissoute	18
2.3.4 Colmatage par la fraction inorganique dissoute	19
3 Caractéristiques et propriétés colmatantes de la Matière Organique Dissoute (DOM)	20
3.1 DOM : définitions et description	20
3.2 Méthodes analytiques	24
3.2.1 Fluorescence3D ou 3DEEM	27
3.2.2 LC-OCD-OND-UVD	31
3.3 DOM : caractérisation et colmatage des différentes fractions	32
3.3.1 Biopolymères (BP)	33
3.3.1.1 Nature des biopolymères	33
3.3.1.2 Mécanismes de colmatage	35
3.3.2 Les substances humiques (HS)	36
3.3.2.1 Nature des substances humiques	37
3.3.2.2 Mécanismes de colmatage	38
3.3.3 Building blocks (BB)	39
3.3.4 Les molécules à faible poids moléculaire (LMW)	39
3.4 Rôle des interactions entre les composés de la DOM dans les phénomènes de colmatage	41
3.4.1 Mise en évidence par des tests de filtration de molécules modèles	42

	3.4.2	Mise en evidence par fractionnement selon les propriétés d'hydrophobicité	43
4		Occurrence de la DOM	45
	4.1	Composition de l'effluent d'entrée et charge organique	46
	4.2	SRT et HRT	47
	4.3	Température	48
5		Conclusion de l'état de l'art	50
II Matériel et Méthodes			53
1		Outils analytiques classiques des boues de station d'épuration	55
	1.1	Mesure des paramètres physico-chimiques	55
	1.2	DCO	55
	1.3	Azote Total (TN : Total Nitrogen)	56
	1.4	COT et COD	56
	1.5	Absorbance UV ₂₅₄ et SUVA ₂₅₄	56
	1.6	MES et MVS	56
	1.7	Chromatographie ionique	58
2		Sujets d'études	59
	2.1	La station d'épuration de la Grande-Motte	59
		2.1.1 Caractéristiques	59
		2.1.2 Campagnes de prélèvement et calculs	61
	2.2	Pilote Bàm pour le traitement des urines	62
		2.2.1 Caractéristiques	62
		2.2.2 Prélèvements et mesures	66
3		Fractionnement de la DOM	66
	3.1	Prélèvements et filtration	67
	3.2	Concentration des échantillons	68
	3.3	Fractionnement par dialyse et résines XAD	69
		3.3.1 Dialyse	69
		3.3.2 Résines XAD	70
	3.4	Purification des fractions	71
	3.5	Préparation des solutions de fractions simples et mélangées	71
4		Tests de filtration	72
	4.1	Montage expérimental	72
	4.2	Membranes de filtration	72
	4.3	Protocole de filtration	73
		4.3.1 Préparation des membranes et mesure de perméabilité	73
		4.3.2 Etude du colmatage des fractions	73
	4.4	Exploitation des données de filtration	74
	4.5	Bilan de matière	78
5		Méthodes de caractérisation de la DOM	78
	5.1	Méthodes colorimétriques	78
		5.1.1 Détermination de la concentration en protéines	79
		5.1.2 Détermination de la concentration en polysaccharides	80
	5.2	Spectroscopie de fluorescence 3D (3DEEM)	81
		5.2.1 Mode opératoire	81
		5.2.2 Spectres de fluorescence	81
		5.2.3 Dilution et linéarité pour la quantification	82
		5.2.4 Exploitation des données	84
	5.3	LC-OCD-OND	86
		5.3.1 Mesures	86
		5.3.2 Exploitation des données	87
	5.4	Quantification des groupements fonctionnels par THM-GC/MS	88

6	Suivi de la Biomasse Active	89
6.1	Protocole	90
6.2	Exploitation des données	90
7	Outils statistiques	93
7.1	Analyse par composantes principales	93
7.2	Vérification de la validité des corrélations linéaires	93
III Characteristics and fouling behavior of DOM fractions in a full-scale submerged MBR for municipal WWT		95
1	Introduction	100
2	Material and methods	103
2.1	DOM sampling and collection	103
2.2	DOM isolation	104
2.3	Liquid sample and isolate fraction characterization	104
2.3.1	Isolated and mixed fractions preparation	104
2.3.2	TOC, UV ₂₅₄ and SUVA ₂₅₄	105
2.3.3	3DEEM	105
2.3.4	Liquid Chromatography Organic carbon detection (LC-OCD)	105
2.3.5	Double-shot thermochemolysis (THM-GC/MS)	106
2.4	Membrane filtration tests	106
2.5	Scanning electron microscopy (SEM) for membrane analysis	108
3	Results and discussion	109
3.1	DOM characteristics	109
3.1.1	DOM in MBR bulk supernatant (BS) and permeate (P)	109
3.1.2	DOM fractions	110
3.1.3	Mixed DOM fractions	113
3.2	Investigation of fouling mechanisms of DOM fractions	114
3.2.1	DOM fractions filtration	114
3.2.2	Resistances in series model	117
3.3	Membrane interactions through cleaning procedures	118
3.4	Carbon mass balances	120
4	Conclusions	121
5	Implications et perspectives	123
IV 3DEEM for quick and pseudo-quantitative determination of proteins- and humic-like substances in full-scale MBR		127
1	Introduction	131
2	Material and methods	133
2.1	Sample collection and preparation	133
2.2	DOM characterization	135
2.2.1	Colorimetric methods	135
2.2.2	LC-OCD-OND	136
2.2.3	3DEEM	138
2.3	Statistical analysis	139
3	Results and discussion	140
3.1	Principal Component Analysis (PCA) of different analytical methods	140
3.2	Comparison of colorimetric methods and LC-OCD for proteins and polysaccharides membrane retention estimation	142
3.3	Calibration of 3DEEM fluorescence for the determination of proteins	144
3.3.1	Calculation of protein concentration	144
3.3.2	Correlation between proteins determined by LC-OCD-OND and 3DEEM	145
3.4	3DEEM fluorescence calibration for humic-like substances	147

3.5	Examples of application for FA+HA-like _{3DEEM} and SMP-like _{3DEEM} de-termination	149
4	Conclusions	150
5	Implications et perspectives	152
V	New insight into the fate and fouling behavior of bulk DOM in a full-scale MBR for domestic wastewater treatment	155
1	Introduction	159
2	Material and Methods	161
2.1	Studied MBR and samples	161
2.2	Classical analytical methods	162
2.3	3DEEM fluorescence spectroscopy	163
2.4	Active biomass concentration measurements	165
2.5	DOM production rate and membrane accumulation calculation	166
2.6	Operating parameters and membrane fouling rate	167
2.7	Statistical analysis using Principal Component Analysis (PCA)	167
3	Results and discussion	167
3.1	Membrane bioreactor operating conditions	167
3.2	Active biomass evolution	169
3.3	DOM characterization, fate and fouling propensities	172
3.3.1	DOM fate in bulk supernatant	172
3.3.2	DOM fouling propensities	173
3.4	Membrane fouling and DOM accumulation	175
4	Conclusions	177
5	Implications et perspectives	179
VI	Source-separated urine nitrification using a MBR : performances, biomass acclimation and DOM transformation	183
1	Introduction	188
2	Material and methods	191
2.1	Innoculum	191
2.2	Urine collection and characteristics	191
2.3	Lab-scale MBR set-up	192
2.4	Analytical methods	193
2.5	LC-OCD-OND-UVD measurements	194
2.6	3DEEM measurements	195
3	Results and discussion	195
3.1	Biomass acclimation	195
3.1.1	Nitrogen and carbon treatment efficiency	197
3.1.2	MBR permeate quality	198
3.2	DOM fate within the MBR	199
3.2.1	Comparison between influent urine and bulk supernatant	199
3.2.2	DOM membrane retention	204
4	Conclusions	206
5	Implications et perspectives	209
VII	Conclusions générales	214
VIII	Annexes	253
	Annexe A	255
	Annexe B	256
	Annexe C	260
	Annexe D	264

Annexe E 265

Liste des figures

I.1	Schémas (a) d'un procédé BA classique et des deux types de Bàm possibles : (b) le Bàm à membranes externes et (c) le Bàm à membranes immergées	9
I.2	Schéma des différents mécanismes de colmatage (1) polarisation de concentration, (2a) colmatage externe par formation d'un gâteau de filtration, (2b) colmatage externe par formation d'un gel de filtration, (2c) formation d'un biofilm, (3a) colmatage interne par blocage de pores et (3b) colmatage interne par constriction de pores due au processus d'adsorption	12
I.3	Représentation schématique des différents types de colmatage par la mesure de la PTM [1]	16
I.4	Représentation schématique de l'origine et du devenir des composés de la DOM au cours du cycle de l'eau avec NOM, OMP, MO _{FB} et EPS, la matière organique naturelle, les micropolluants issus de l'activité anthropique, la matière organique facilement biodégradable et les substances extracellulaires polymériques, respectivement	22
I.5	Représentation schématique du recoupement entre définitions et méthodes analytiques dans les études sur le colmatage [2]	23
I.6	Liens entre bactéries et EPS/SMP	23
I.7	Distinction entre les métabolismes de sécrétion des SMP de type UAP et BAP	24
I.8	Cartographie des spectres de 3DEEM et différents fluorophores associés de Chen <i>et al.</i> (2003) [3]	28
I.9	Exemple d'une analyse par PARAFAC faite sur un spectre de 3DEEM a) spectre initial et b) fluorophores identifiés [4]	30
I.10	Exemple de chromatogramme LC-OCD-OND-UVD réalisé sur des effluents de Bàm avec A, B, C, D et E correspondant aux pics des BP, HS, BB, LMW-A et LMW-N, respectivement, et F et G correspondant aux pics des nitrates et de l'ammonium, respectivement [5]	32
I.11	Structure des acides aminés (AA, Amino Acids) fluorescents : Tryptophane (Trp), Tyrosine (Tyr) et Phenylalanine (Phe)	34
I.12	Exemple d'ose et de liaison osidique constituant les polysaccharides	34
I.13	Structures théoriques des a) acides humiques et b) acides fulviques	37
I.14	Schéma récapitulatif des différentes fractions des boues activées et leur impact sur la membrane	41
I.15	Schéma des cas de figures lors de la filtration de deux types de composés, avec R _{th} et R _{exp} les résistances théorique (RIS) et expérimentale	42
I.16	Schéma descriptif des verrous scientifiques liés à la compréhension et la maîtrise des mécanismes de colmatage	51
II.1	Schéma descriptif de la station d'épuration de la Grande-Motte	59
II.2	Schéma descriptif du Bàm à l'échelle pilote mis en place pour traiter l'urine	63
II.3	Photo de l'urinoire de collecte des urines réelles	64

II.4	Schéma descriptif des réactions liées au processus de nitrification de l'urine avec AOB (Ammonium Oxydizing Bacteria) et NOB (Nitrite Oxidizing Bacteria) les bactéries responsables de la nitrification et nitratisation respectivement	64
II.5	Protocole de fractionnement de la Matière Organique Dissoute du surnageant de BâM	67
II.6	Filtration des boues activées du BâM de La Grande-Motte	68
II.7	Concentration de l'échantillon par (a) adoucissement par résine échangeuse d'ions, puis (b) montage d'osmose inverse	69
II.8	Dialyse du concentrât de surnageant de boues activées de BâM (a) avant et (b) après	70
II.9	Montage expérimental pour les filtrations de fractions de DOM	72
II.10	Protocole expérimental développé pour étudier les phénomènes de colmatage des fractions de DOM, ainsi que leur réversibilité et irréversibilité	74
II.11	Exemple de courbe ratio temps/volume en fonction du volume filtré pour le calcul de la résistance spécifique, obtenue pour la filtration de la fraction Colloïdes	76
II.12	Choix de la dilution adéquate pour les analyses de fluorescence	83
II.13	Blanc de 3DEEM réalisé avec de l'eau MilliQ® et bandes de diffusion associées	84
II.14	Exemples de spectres de 3DEEM (a) avant et (b) après correction	84
II.15	Montage pour le suivi respirométrique de la Biomasse Active	91
II.16	Processus métaboliques considérés dans le modèle ASM3 pour (a) la population hétérotrophe (X_H) et (b) la population autotrophe AOB+NOB (X_A). Avec X_S : la concentration en substrat organique particulaire, S_S : la concentration en substrat organique dissous, X_{STO} : la concentration des produits de stockage, X_I : la concentration en composés inertes, S_O : la concentration en dioxygène dissous et $S_{NH_4^+}/S_{NO_x}$: les concentrations en azote sous forme ionique (NH_4^+ , NO_3^- et NO_2^-)	91
III.1	3DEEM Fluorescence spectra of bulk supernatant (BS) and permeate (P) samples	109
III.2	Fluorescence spectra of (a) single fractions (C, HPO and TPI) and (b) mixed fractions (C+HPO, C+TPI, HPO+TPI and C+HPO+TPI). I+II, III, IV and V regions correspond to protein-like, fulvic-like, SMP-like and humic-like regions, respectively (the scale shown is in arbitrary unit)	112
III.3	LC-OCD results performed on (a) isolated fractions (C, HPO, TPI) and (b) mixed fractions (C+HPO, C+TPI, HPO+TPI, C+HPO+TPI and sludge supernatant)	113
III.4	SEM images of a) clean membrane, b) Colloids fraction (C), c) HPO and d) TPI fouled membranes	114
III.5	Normalized flux against specific permeate volume during filtration of (a) colloids (C), hydrophobic (HPO) and transphilic (TPI) fractions and (b) mixed fractions C+HPO, C+TPI, HPO+TPI and C+HPO+TPI for a constant TOC concentration of 1mgC/L	115
III.6	Carbon mass collected in the permeate ($m_{permeate}$), the relaxation solution ($m_{relaxed}$), the backwashing solution ($m_{backwashed}$) and that remaining on the membrane ($m_{irreversible}$) for a) single fractions and b) mixed fractions	120
III.7	Indicateurs de fluorescence spécifiques des fractions de DOM extraites à La Grande-Motte	125
IV.1	Evolution over time during the sampling period (May to November 2015 of a) BS-MBR1 MLSS concentration, HRT and SRT and b) inlet flow rate and temperature	134
IV.2	Examples of a) 3DEEM spectrum and b) LC-OCD-OND chromatogram obtained for BS-MBR1 samples	137

IV.3	Principal Component Analysis (PCA) of Dubois, modified Lowry, LC-OCD-OND and 3DEEM analysis from MBR1 sampling campaign (from May to November 2015 (n=16))	140
IV.4	Colorimetric methods (PS_{Dubois} , PN_{Lowry} and LC-OCD-OND (BP_{OCD} , LMW_{OCD}) for bulk supernatant (BS-MBR1) and permeate (P-MBR1) samples taken between May and November 2015 (n=16). Error bars correspond to relative standard deviation (RSD)	142
IV.5	SMP-like _{3DEEM} versus proteins from $BP_{\text{OCD/OND}}$ concentration from MBR1 samples (n=9) (black squares) and additional samples from MBR1, MBR2, CAS and <i>lab</i> -MBR (red circles). BS, P, E and BWS correspond to bulk supernatant, permeate, effluent and backwash solution, respectively	145
IV.6	FA+HA-like _{3DEEM} versus HS+BB _{OCD} concentration from MBR1 samples (n=14) (black squares) and additional samples from MBR1, MBR2, CAS and <i>lab</i> -MBR (red circles). BS, P, E and BWS correspond to bulk supernatant, permeate, effluent and backwash solution, respectively	147
IV.7	MBR1 retention efficiencies of a) humic-like substances determined by LC-OCD (HS+BB _{OCD}) and calculated from FA+HA-like _{3DEEM} and b) Proteins from $BP_{\text{OCD/OCD}}$ and Proteins from BP concentration calculated from SMP-like _{3DEEM}	149
IV.8	Validation des indicateurs de fluorescence spécifiques des fractions de DOM extraites à STEP de La Grande-Motte et corrélations de quantification	152
V.1	Fluorescent footprint of DOM present in the bulk supernatant (BS_{MBR}), permeate (P_{MBR}) at day 458. Regions I+II, III, IV and V, correspond to the Prot1+2-like, fulvic-like, SMP-like and humic-like fluorophores, respectively [3]	163
V.2	(a) Organic load (OL) (black circles), reactors total volume (blue line) and reactor temperature (red triangles) evolution with time, (b) SRT (black triangles) and HRT (blue squares), (c) Volumic loading rate (empty black circles) and massic loading rate (red circles) and (d) MLSS concentration (green diamonds) evolution with time where white areas correspond to low season (LS), blue areas correspond to high season (HS) and hatched blue areas correspond to transitional phases	168
V.3	Heterotrophic (X_{H}) (black squares) and autotrophic (X_{AOB} et X_{NOB}) (empty red diamonds and green triangles) active biomass concentrations and MLVSS concentration (empty blue circles) evolution with time. LS and HS correspond to low season and high season respectively	170
V.4	Principal Components Analysis (PCA) for operating parameters (SRT, Temperature, HRT, C_{F} MLVSS, NL and OL) and active biomass population concentrations (X_{AOB} , X_{NOB} , X_{H}) corresponding to the sampling campaigns (April 2015 to June 2016 n=24)	171
V.5	Evolution with time of the proteins from biopolymers (BP) concentration (blue circles), humic substances concentration (green triangles) normalized by the total active biomass concentration (X_{tot})	172
V.6	3DEEM fluorescence spectra of the DOM retained by the membrane at day 458 ($R_{\text{MBR}} = BS_{\text{MBR}} - P_{\text{MBR}}$) and the DOM present in the HCl chemical cleaning solution taken day 256 (CCS_{MBR})	173
V.7	Evolution with time of (a) Proteins from Biopolymers membrane retention (red bars) and (b) HS+BB membrane retention (green bars)	174
V.8	Mean daily resistance evolution with time (black squares) and sampling day (red circles). Numbers correspond to the sampling days. Chemical cleaning (CC) with HCl and bleach are reported with black arrows	175
V.9	(a) Proteins from BP and (b) HS+BB accumulation as a function of membrane resistance for the filtration phases between CC1 and CC2 in blue [CC1-CC2] and between CC2 and CC3 in red [CC2-CC3]	177

V.10	Utilisation de la méthode pseudo-quantitative de 3DEEM pour mettre en évidence le lien entre paramètres opératoires, biomasse active et DOM dans le Bàm de La Grande-Motte	180
VI.1	Lab-scale MBR set-up scheme	192
VI.2	(a) NLR, (b) conductivity and (c) MLSS and MLVSS concentrations in the lab-scale MBR over time	196
VI.3	(a) COD and TOC removal rates and (b) nitrification efficiency in the lab-scale MBR over time	198
VI.4	Comparison between BP _{OCD} , HS+BB _{OCD} , LMW-A _{OCD} and LMW-N _{OCD} in (a) influent urine and (b) bulk supernatant concentrations measured using LC-OCD	200
VI.5	UV ₂₅₄ signal (a), DON signal (b) and DOC signal (c) obtained analysing urine (red line) and bulk supernatant (BS) (black line) samples taken at day 27 using LC-OCD-OND-UVD, compared with their respective 3DEEM spectra (d) Urine day 27 and (e) BS day 27	201
VI.6	Evolution with time of the bulk supernatant volume of fluorescence (R.U.nm ²) calculated in (a) region IV (SMP-like _{3DEEM} , red circles) and (b) region III+V (FA+HA-like _{3DEEM} , blue triangles) (n = 18), as a function of NLR	203
VI.7	UV ₂₅₄ signal (a), DON signal (b) and DOC signal (c) obtained analyzing bulk supernatant (BS) (black line) and permeate (blue line) samples taken at day 27 using LC-OCD-OND-UVD, compared with their respective 3DEEM spectra (d) BS day 27 and (e) Permeate day 27	204
VI.8	Membrane retention of (a) the LC-OCD concentrations in proteins from biopolymers (PN from BP _{OCD}), polysaccharides from biopolymers (PS from BP _{OCD}), HS+BB _{OCD} , LMW-A _{OCD} and LMW-N _{OCD} and (b) the volumes of fluorescence in region IV (SMP-like _{3DEEM}) and region III+V (FA+HA-like _{3DEEM}), corresponding to the samples taken at different operating days described in Table VI.3 (n=7)	206
VI.9	Spectres de 3DEEM de (a) l'inoculum du Bàm à l'échelle pilote traitant des urines provenant du procédé boues activées de la STEP de Saint-Clément de Rivière, (b) surnageant des boues prélevé au 6ème jour de fonctionnement dans Bàm à l'échelle pilote traitant des urine et (b) surnageant de boues prélevé à la station d'épuration de LGM	210
VI.10	Liens établis entre la DOM mesurée par 3DEEM et les aspects du procédé Bàm étudiés	211
VI.11	Spectres de 3DEEM des solutions de rinçage (Biofilm) et de lavages chimiques (NaOH, C ₆ H ₈ O ₇ et javel)	213
B.1	Thermochemolysis-GCMS pyrograms made from a) C, b) HPO and c) TPI powder at 350°C	256
B.2	Thermochemolysis-GCMS pyrograms made from a) C, b) HPO and c) TPI powder at 600 °C	257
C.1	PCA scatter plot for individuals	263
D.1	Attempts to find correlations between between membrane indicators and DOM indicators	264
D.2	PCA performed on resistances (R), membrane fouling rate (dR/dt), Proteins from BP membrane retention and HS+BB membrane retention	264
D.3	Spectre 3DEEM de l'intrant de la STEP de La Grande-Motte	265

Liste des tables

I.1	Classifications par taille des composés présents dans une boues activée	17
I.2	Description des techniques analytiques couramment utilisées pour l'étude de la DOM, ainsi que leurs avantages et inconvénients	26
I.3	Description des fluorophores associés à la cartographie de Chen <i>et al.</i> (2003) [3]	28
I.4	Description des familles de molécules identifiées par LC-OCD-OND-UVD [5]	32
I.5	Description des différents composés contenus dans la DOM en terme de taille, de caractéristiques et de propriétés colmatantes	40
I.6	Tableau descriptif de la diversité de la composition de la DOM et des conditions opératoires étudiées	49
II.1	Performances moyennes de la station de La Grande-Motte en 2014 (Source : Stereau, Notice d'exploitation LGM)	60
II.2	Volumes associés à chaque bassin	60
II.3	Calculs des paramètres opératoires suivis à La Grande-Motte	62
II.4	Résultats de la caractérisation des urines réelles collectées au cours de la mise en œuvre du pilote (valeurs moyennes et écart-types, n=74).	64
II.5	Ratios et concentrations utilisés pour la préparation des mélanges de fractions	72
II.6	Préparation des solutions étalons de BSA	79
II.7	Protocole expérimental de la méthode de Lowry modifiée	80
II.8	Préparation des solutions étalons de D-glucose	81
II.9	Paramètres pour les analyses de fluorescence 3D.	81
II.10	Taux de dilution fixés pour l'ensemble des échantillons étudiés	83
II.11	Valeurs des MF(i) associées aux différentes régions de fluorescence	86
II.12	Abréviations et caractéristiques des familles de fluorophores détectées par 3DEEM dans cette étude	86
II.13	Abréviations et caractéristiques des familles de composés détectées par LC-OCD-OND-UVD dans cette étude	88
III.1	Operational conditions during sampling campaigns	103
III.2	DOM mixed solutions composition	105
III.3	Dead-end filtration protocols	107
III.4	UV ₂₅₄ absorbance, TOC concentration and SUVA ₂₅₄ of the bulk supernatant (BS) and permeate (P) samples	109
III.5	Relative percentages of the 5 classes of compounds identified in the 3 samples at 350 and 600°C	111
III.6	Characterization results for the three DOM fractions (C, HPO and TPI)	113
III.7	Single and mixed fractions filtration resistance (R_f) and their associated flux reduction after 200L/m ² filtration compared with the resistance calculated with the resistances in series model (R_{RIS})	117
III.8	Flux recovery and resistances after cleaning steps	118
IV.1	Name and origin of samples	135

IV.2	3DEEM and LC-OCD-OND response and their associated names and characteristics	137
IV.3	Protein and polysaccharide contents calculated from biopolymers determined by OCD and OND detection ($BP_{OCD/OND}$) for MBR1 samples	144
IV.4	Equations for Proteins from BP concentration calculation in low and high fluorescence intensity, as determined for MBR1 (Figure IV.5)	146
IV.5	Comparison of experimental and prediction of Proteins from BP data for additional samples	146
IV.6	Comparison of HS+BB determined from LC-OCD and calculated from FA+HA-like3DEEM	148
V.1	Characteristics of WWTP biological reactors	162
V.2	Samples name according to the sampling points	162
V.3	3DEEM spectra regions and abbreviations	163
V.4	Equations used for Proteins from BP and HS+BB concentration calculation using the volume of fluorescence from SMP-like and FA+HA-like regions, respectively [6]	164
V.5	Mean values and standard deviation X_H , X_{AOB} and X_{NOB} parameters in the different periods (LS : low season, HS : high season and TR : transitory period) 169	169
VI.1	Urine main characteristics (mean values and relative standard deviations, n=74) 192	192
VI.2	Lab-scale MBR set-up main characteristics.	192
VI.3	NLR, OLR, COD/N ratio, conductivity and feed dilution measured at the sampling days for LC-OCD-OND-UVD analysis.	194
VI.4	3DEEM fractions description [3].	195
VI.5	MBR average permeate quality in terms of pH, conductivity, COD, TOC, NO_3^- , NO_2^- and NH_4^+ during phase 3, corresponding to the stable period after acclimation	199
VI.6	LC-OCD-OND organic carbon and nitrogen concentrations measured in $BP_{ODC/OND}$ (DOC, DON and C/N ratio), HS+BB _{ODC} , LMW-A _{ODC} and LMW-N _{ODC} fractions of urine samples taken at different operating days (n=7)	199
B.1	Relative percentages of the different compounds identified in the 3 samples at 350°C. A : Aliphatic, N : Nitrogen, B : Aromatic, F : Furanic, P : Phosphorous 258	258
B.2	Relative percentages of the different compounds identified in the 3 samples at 600 °C. A : Aliphatic, N : Nitrogen, B : Aromatic, F : Furanic, P : Phosphorous 259	259
C.1	Wastewater samples characteristics with BS-MBR1 and E-MBR1 corresponding to the bulk supernatant and permeate samples from MBR1 taken between May and November 2015	261
C.1	Variance descriptions for the different axis (Dim)	261
C.2	PCA Individuals description where Dim, ctr and \cos^2 correspond to the individuals coordinates, contribution in percentage and \cos^2 of the angle between the individuals vector and the axis, respectively	261
C.3	PCA Variables description where Dim, ctr and \cos^2 correspond to the individuals coordinates, contribution in percentage and \cos^2 of the angle between the individuals vector and the axis, respectively	262
C.4	PCA correlation coefficient and p-value between Dim.1 and variables	262
C.5	PCA correlation coefficient and p-value between Dim.2 and variables	262
E.1	Complete urine composition	265
E.2	Complete values of pH, conductivity, COD and TN concentrations in the feed (urine) during the 120 days of operation	266
E.3	Complete values of pH, conductivity, COD, TN, NO_2^- and NH_4^+ concentrations in the MBR permeate during the 120 days of operation	267

Introduction Générale

La gestion des eaux usées « urbaines » est une problématique sanitaire datant de l'Antiquité. En effet, les grandes cités telles que Rome collectaient déjà les eaux usées pour les rejeter en aval de la ville, via des canaux de collecte [7]. Au cours du 19^{ème} siècle, avec la forte croissance démographique dans les grandes villes, due à la révolution industrielle, les quantités d'eaux usées déversées étaient de plus en plus importantes. Ce fut le cas notamment de la ville de Londres, qui en 1811 comptait près de 1 050 000 habitants [8]. Malgré la collecte des eaux usées par des canaux, la Tamise était un égout à ciel ouvert, engendrant ainsi des problèmes sanitaires majeurs comme des épidémies de choléra ou de fièvre typhoïde [9]. C'est à cette époque que des scientifiques ont commencé à mettre en œuvre les premiers systèmes de traitement à grande échelle, notamment via l'utilisation de filtres à sable à partir de 1893 [7]. En 1913, le procédé boues activées est découvert et mis en application par les ingénieurs Edward Ardern and W.T. Lockett, permettant d'intensifier le traitement des eaux usées [10]. En 1920, la première station d'épuration boues activées voit le jour à Sheffield (Royaume Uni), suivie de nombreuses autres aux Etats Unis ou en Allemagne [11], [7].

De nos jours, les eaux usées sont traitées dans de nombreux pays pour respecter les normes de rejet imposées. En Europe, c'est la Directive Cadre sur l'Eau (Directive Cadre 2000/60/CE) qui impose à toutes les stations d'épuration des concentrations de rejet inférieures à 35, 25 et 125 mg/L en MES, DBO₅ et DCO, respectivement. Néanmoins, la raréfaction de la ressource, la croissance démographique et sa demande en eau associée, ainsi que le coût du traitement de l'eau, remettent en question notre perception des eaux usées qui sont souvent considérées comme un déchet final. En effet, le coût du traitement en France s'élève à 10,6 milliards d'euros par an, pour une production d'eaux usées traitées d'environ 7km³ en 2011 [12]. Sachant que pour l'ensemble des besoins des activités humaines (agriculture, domestique, industrie), 33 km³ sont prélevés chaque année (données 2009), les eaux usées traitées représentent une ressource secondaire en eau douce non négligeable.

La sémantique est donc en train d'évoluer, il n'est plus question Station d'Épuration, mais d'usine de traitement et de valorisation des ressources (WRRF, Water Resource Recovery Facilities). C'est dans ce contexte que les BioRéacteurs à Membranes (BàM) ont été développés, avec une première installation mise en œuvre dès les années 60 [13]. En combinant un traitement biologique par boues activées et une séparation liquide/solide par membrane, il est possible d'atteindre une qualité d'eau plus adaptée à une éventuelle réutilisation (REUT,

Reutilisation des Eaux Usées Traitées), en assurant notamment une rétention poussée des matières en suspension et des bactéries [14]. Néanmoins, ce procédé est associé à des coûts énergétiques de fonctionnement plus élevés que les procédés boues activés classiques (en moyenne 0.62kWh/m^3 contre 0.3kWh/m^3) [15]. Ceci diminue ainsi la compétitivité des Bàm dans les zones où la réutilisation des eaux n'est pas encore une priorité, ou dans les zones où les moyens économiques sont limités. Le développement de membranes performantes et le maintien des performances de filtration sur le long terme sont donc des enjeux majeurs.

Ainsi, la maîtrise du colmatage membranaire pourrait permettre de diminuer les coûts associés à la maintenance de la membrane. Néanmoins, après plus de quatre décennies de recherches sur le colmatage dans les Bàm, représentant 22% des travaux publiés sur les Bàm, le colmatage reste un challenge scientifique pour l'optimisation des Bàm [16]. Certains auteurs préconisent quant à eux de laisser le biofilm se développer sur la surface externe de la membrane pour favoriser la rétention et/ou l'élimination de certains composés, tels que les micropolluants ou les virus [17], [18]. Plusieurs avancées majeures ont été faites notamment en ce qui concerne le matériau membranaire, la gestion du colmatage par ajout de promoteurs de turbulence (MCP, Mechanical Cleaning Particles) ou la découverte du Quorum Quenching pour contrôler le biofilm [19], [16]. Cependant, le colmatage membranaire étant un mécanisme complexe, il reste inévitable et difficilement contrôlable, malgré la mise en place de stratégies de décolmatage comme les lavages chimiques, l'injection de bulles de gaz au voisinage de la membrane, la relaxation ou le rétro-lavage [20]. Ces trois dernières stratégies permettent de contrôler principalement l'accumulation de matière particulaire en créant notamment des forces de cisaillement au voisinage de la membrane [21].

Néanmoins, la fraction dissoute, aussi qualifiée de Matière Organique Dissoute (DOM, Dissolved Organic Matter), continue à s'accumuler en permanence sur la membrane en contribuant notamment au colmatage irréversible [22], [23]. Les liens entre DOM et colmatage ne sont d'ailleurs pas clairement définis, car il existe beaucoup de contradictions entre les études réalisées. Celles-ci seraient en partie dû à la diversité des procédés étudiés et des techniques de mesures utilisées [2]. En effet, de nombreuses études utilisaient et utilisent des méthodes colorimétriques de quantification des protéines [24], [25] et des polysaccharides [26], qui ne sont finalement pas adaptées aux matrices des Bàm [27]. La seconde raison évoquée dans cette même étude est la diversité de la DOM. En effet, l'activité bactérienne

intense dans les boues activées engendre la sécrétion de molécules appelées substances extracellulaires polymériques liées (EPS, Extracellular Polymeric Substances), lorsqu'elles sont liées à la bactérie, et EPS-dissoutes ou produits microbiens solubles (SMP, Soluble Microbial Products), lorsqu'elles sont sécrétée dans la solution aqueuse. Ainsi, ce sont les SMP qui sont considérés comme les principaux composés de la DOM [28], [29]. Néanmoins, leur concentration, composition et propriétés colmatantes dépendent fortement des conditions opératoires, ainsi que des propriétés de l'intrant.

Ainsi, les verrous scientifiques abordés lors de ces travaux de thèse sont les suivants :

- Quels sont, parmi les molécules de la DOM, les agents principalement responsables du colmatage ?
- Peut-on les identifier et quantifier de façon rapide et spécifique dans un objectif de suivi dynamique ?
- Quelles sont les interactions entre les agents colmatants et ou entre les agents colmatants et le matériau membranaire. Comment les mettre en évidence ? Et comment ces interactions peuvent-elles changer les mécanismes et les dynamiques de colmatage ?
- Les paramètres opératoires influencent-ils la production de ces composés colmatants et leurs effets sur le colmatage membranaire ?
- Peut-on discriminer analytiquement les composés provenant de l'intrant et celles produites au sein du BâM ?

Pour tenter de répondre à ces problématiques, ces travaux de thèse ont consisté en (i) une analyse bibliographique des travaux déjà publiés sur le sujet et (ii) un travail expérimental d'identification des composés colmatants à partir d'échantillonnage sur station réelle traitant un effluent urbain et sur unité pilote de laboratoire. Les résultats du travail réalisé sont synthétisés dans ce mémoire construit autour de six chapitres.

Le **premier chapitre** est une synthèse bibliographique préliminaire permettant une description de la DOM et de ses principaux constituants dans le surnageant de BâM, en lien avec les mécanismes de colmatage. Dans ce même chapitre sont abordés les effets d'interactions entre les molécules en question, ainsi que le lien entre leur production et les paramètres opératoires d'un bioréacteur à membrane dédié au traitement des eaux usées urbaines.

Le **second chapitre** décrit les matériels et méthodes employés au cours de cette étude.

Le **troisième chapitre** consiste en l'étude des mécanismes de colmatage de fractions de la DOM différenciées par taille et par hydrophobicité, ainsi que l'impact de leurs possibles interactions sur ces mécanismes de façon à identifier les principaux responsables du colmatage contenus dans la DOM.

La **quatrième chapitre** est consacré à la description de la mise en place d'une méthode de quantification des protéines et des substances humiques dans le surnageant et le perméat d'un Bàm traitant des effluents urbains.

Le **cinquième chapitre** est l'étude globale d'un Bàm traitant des eaux usées urbaines pour mettre en évidence des possibles liens entre paramètres opératoires et production de composés colmatants, ainsi que les liens entre la présence de ces composés et les dynamiques du colmatage membranaire.

Enfin, le **dernier chapitre**, correspond à la recherche de l'apparition ou de la consommation de la DOM en fonction des conditions opératoires pour le cas particulier du traitement de l'urine, après séparation à la source, pour permettre un éventuel pilotage en fonction de leur production.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

1 Les Bioréacteurs à Membranes

Le Bioréacteur à Membranes (BàM) est un procédé présentant de nombreux avantages au regard des techniques classiques de traitement notamment en terme (i) de conception, car il permet la mise en place d'un réacteur multifonctionnel, et (ii) de qualité d'eau traitée, le tout rendant la filière de traitement plus compacte. Néanmoins, c'est un procédé présentant des désavantages majeurs liés notamment à des aspects énergétiques et de robustesse. Ainsi, une meilleure maîtrise du procédé conforterait le BàM comme une alternative efficace pour faire face à l'augmentation de la consommation en eau, liée à la croissance démographique. Ceci permettrait également de considérer l'eau traitée comme une ressource secondaire d'eau douce et, indirectement, de protéger la ressource globale.

Le BàM consiste en l'association d'un procédé à boues activées (i) contenu dans un bassin réactionnel (mono ou pluri-étagé) contenant des cultures bactériennes épuratives présentes en suspension dans une suspension aqueuse et (ii) d'une filtration sur membrane micro (valeur moyenne du diamètre des pores de $0,05 - 10\mu\text{m}$) ou ultraporeuse ($0,01 - 0,05\mu\text{m}$) en remplacement de la décantation gravitaire conventionnelle (Figure I.1) [14].

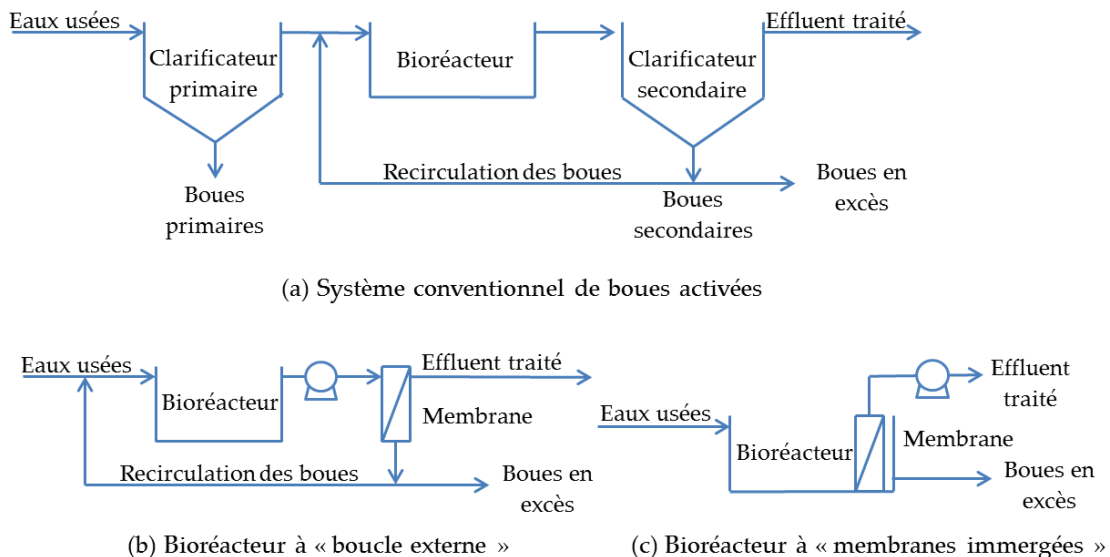


Figure I.1 – Schémas (a) d'un procédé BA classique et des deux types de BàM possibles : (b) le BàM à membranes externes et (c) le BàM à membranes immergées

Deux configurations de base des BàM sont classiquement utilisées (Fig.I.1).

- Les **BàM « à boucle externe »** : ce sont les premiers types de BàM qui ont été développés. Le module membranaire était placé à l'extérieur du bioréacteur et les boues activées

étaient pompées hydrauliquement à un débit important au travers du module membranaire, pour imposer un effet de cisaillement pariétal important (vitesse de circulation de 1 à 5m/s) [14]. Ceci, éventuellement combiné avec une circulation gazeuse au voisinage de la surface membranaire, permettait de réduire l'accumulation de matière solide sur la surface filtrante et d'augmenter le flux de perméat (50 – 120LMH) [30]. Cette configuration induisait néanmoins des coûts de filtration importants, de l'ordre de 10 à 50kWh/m³, peu compatibles avec le traitement des eaux usées urbaines dont les flux à traiter sont importants [31].

- Les **BàM à «membranes immergées»** : ce type de BàM a été développé dans un second temps pour diminuer les coûts de fonctionnement des BàM. Ainsi, la membrane est directement plongée dans le bioréacteur ou dans une cuve annexe, mais sans recirculation à débit important. Une pompe de mise en pression en amont, de succion en aval ou une configuration appliquant une pression gravitaire au module, permet la production de perméat avec une faible pression transmembranaire appliquée (0,05 – 0,5bar). Une aération (grosses, moyennes et/ou fines bulles) limite l'accumulation de matière particulaire au voisinage des surfaces filtrantes. L'étape de filtration s'avère moins énergivore pour cette configuration (< 1kWh/m³) que la précédente, car elle s'affranchit de la pompe de filtration à haut débit [15]. Néanmoins, les flux de perméat étant plus faibles (10 – 40LMH), les surfaces membranaires à installer sont par conséquent plus importantes que pour les BàM à «boucle externe». Le coût initial d'investissement est donc plus élevé, mais cette configuration permet de maintenir une perméabilité membranaire à des coûts économiquement acceptables pour le traitement des eaux usées domestiques.

Les modules membranaires installés dans les BàM peuvent être équipés de deux types de membranes ; des membranes minérales (céramiques) ou des membranes organiques (polymères). Les membranes céramiques sont moins sensibles au colmatage, elles sont toutefois moins flexibles quant à leur mise en œuvre (module plan ou tubulaire), plus cassantes et plus chères en comparaison avec les membranes organiques (modules plans, tubulaires, spiralés ou fibres creuses). Ainsi, les membranes céramiques sont le plus souvent utilisées pour le traitement d'effluents industriels ou dans les BàM anaérobie, où le colmatage limite le procédé. Les membranes organiques sont quant à elles utilisées dans le traitement des effluents urbains. Pour limiter le colmatage dit irréversible, elles sont souvent élaborées à partir d'un mélange de polyéthylène (PE) et de polyfluorure de vinylidène (PVDF) [31].

Le choix de la mise en place d'une séparation solide-liquide par l'utilisation de membranes poreuses à la place d'une simple décantation gravitaire par clarification permet :

- D'augmenter la concentration en biomasse active au sein du bioréacteur et ainsi d'intensifier les processus épuratoires du fait du découplage entre le temps de rétention solide (âge des boues, SRT, Sludge Retention Time) et le temps de rétention liquide (HRT, Hydraulic Retention Time). Par conséquent, le volume des bassins réactionnels peut être réduit, permettant de limiter significativement l'emprise au sol de la station de traitement des eaux usées (STEP, STation d'EPuration).
- D'augmenter le temps de séjour de la phase solide pour modifier l'équilibre écologique et favoriser la croissance de populations bactériennes à plus faibles taux de croissance, aptes à dégrader l'azote ou des composés plus réfractaires (micropolluants organiques) [32], [13]. Dans ce cas, les conditions d'aération et de mélange doivent être par conséquent plus intenses, du fait de l'augmentation de viscosité de la solution, générant des coûts énergétiques supplémentaires [2], [33].
- D'assurer une rétention totale des cultures bactériennes, quel que soit leur état de floculation, permettant une désinfection physique poussée [34], [35]. La qualité de l'eau de sortie est alors plus adaptée à une potentielle réutilisation [36], [37]. Néanmoins, l'opération de séparation liquide-solide par filtration induit une rétention et accumulation de composés en surface même des membranes, mais aussi à l'intérieur des pores (Figure I.2). Ces phénomènes combinés sont qualifiés de colmatage membranaire.

L'intensification de la densité biologique épuratrice au sein du réacteur et la rétention maîtrisée de la biomasse conférerait au Bàm une grande robustesse si la maîtrise totale de la dynamique de colmatage membranaire était assurée.

2 Le colmatage membranaire

2.1 Principe du colmatage membranaire et mesure macroscopique

Lors de la filtration, la matière est apportée en continu sur la surface membranaire où les fractions particulaires (incluant les composés solubles adsorbés sur les particules), colloïdales et solubles sont totalement ou partiellement retenues. Ceci entraîne une accumulation de matière sur la surface membranaire, mais aussi dans les pores. Ce phénomène contribue à la modification de la barrière filtrante (incluant alors le couple « membrane » et « dépôt

dynamique de surface »), diminuant ainsi la perméabilité globale du milieu poreux filtrant [38], [39]. Différents mécanismes, schématisés Figure I.2, peuvent induire une chute de perméabilité.

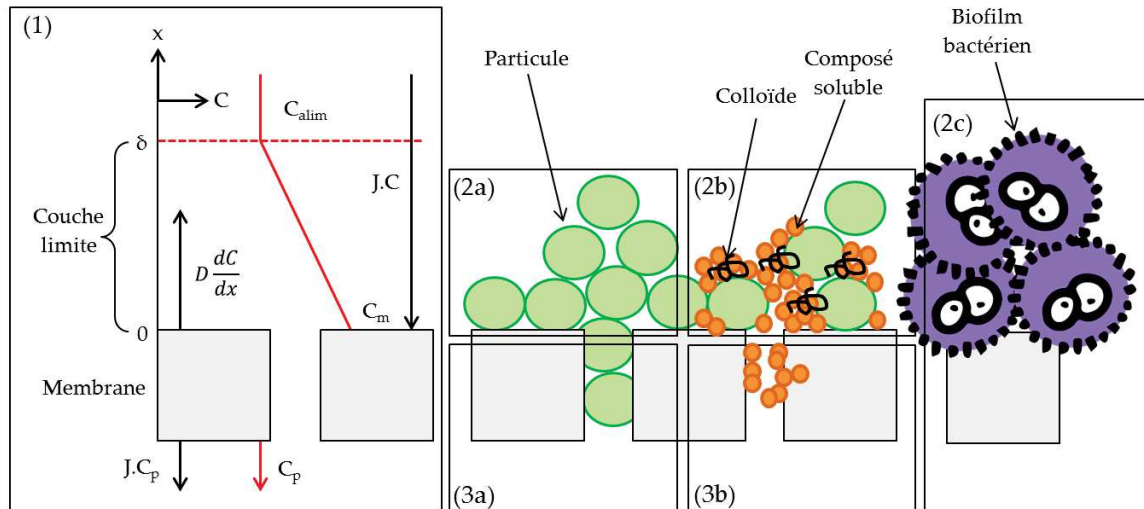


Figure I.2 – Schéma des différents mécanismes de colmatage (1) polarisation de concentration, (2a) colmatage externe par formation d'un gâteau de filtration, (2b) colmatage externe par formation d'un gel de filtration, (2c) formation d'un biofilm, (3a) colmatage interne par blocage de pores et (3b) colmatage interne par constriction de pores due au processus d'adsorption

2.1.1 Polarisation de concentration

Ce phénomène est lié à deux mécanismes (i) l'apport en continu de composés solubles par le flux de filtration et (ii) l'accumulation des composés dans la couche limite au voisinage de la membrane, qui forme alors un gradient de concentration par rapport à la solution à traiter. Ce gradient crée un flux inverse tendant à limiter le flux de perméat. Par ailleurs une trop forte accumulation peut conduire à une précipitation des composés, voire à la formation d'un gel compact réduisant la perméabilité membranaire et complexifiant la régénération membranaire [40] (Figure I.2(1)). Néanmoins, du fait des très faibles pressions appliquées pour la filtration en B&M, la polarisation de concentration est un processus de colmatage minoritaire devant les autres mécanismes.

2.1.2 Colmatage externe

En cours de filtration, si les composés retenus ont une taille supérieure à celle des pores, ils forment un gâteau de filtration (Figure I.2(2a)). Les composés plus petits que la taille des pores peuvent également provoquer un blocage de pores par pontage (petits composés qui traversent simultanément le pore et bloquent l'entrée), suivi d'une accumulation par

couches successives avec formation d'un gâteau de filtration (Figure I.2(2b)) [41], [20].

2.1.3 Colmatage interne

Le colmatage interne concerne les molécules ayant une taille égale ou inférieure à celle des pores de la membrane, il est alors question de colmatage interne par fermeture ou constriction de pores (Figure I.2(3a) et Figure I.2(3b)). Les composés plus petits que la taille des pores peuvent être adsorbés sur le matériau membranaire et former des multicouches de molécules sur les parois d'un même pore, réduisant drastiquement son diamètre et sa perméabilité (Figure I.2(3b)) [41], [40].

2.1.4 Formation d'un biofilm

Les boues activées étant une suspension biologique, la formation d'un biofilm sur la surface membranaire externe, correspondant au dépôt et à la croissance d'une structure microbienne, est inévitable (Figure I.2(2c)) [40]. Le dépôt est initié par l'ancrage à la surface de la membrane de bactéries, libres ou liées sous forme de floccs, contenues dans les boues activées. Ce dépôt serait dû à la formation initiale d'un dépôt de DOM dans les premiers instants de filtration, favorisant le développement du biofilm du fait de la présence de substrat et modifiant les propriétés de surface membranaire [42]. La mobilité des bactéries et l'hydrophobicité de la surface des parois cellulaires sont des facteurs déterminants pour le développement du biofilm [16]. Selon les études ce phénomène de colmatage par biofilm peut être appelé bio-colmatage (bio-cake ou bio-fouling). Dans ce cas, c'est l'ensemble du dépôt des microorganismes et des composés solubles ou colloïdaux, produits par les bactéries ou provenant du surnageant des boues, qui est considéré [43].

Le biofilm peut être contrôlé en partie par les forces de cisaillements en surface de la membrane, ou des promoteurs de turbulence, limitant sa croissance. Néanmoins, son développement ne peut être évité sur le long terme, même si les lavages chimiques permettent de s'en affranchir en partie.

Toutefois, le développement du biofilm à la surface externe de la membrane pourrait également favoriser la rétention et/ou l'élimination de certains composés, tels que les micropolluants ou les virus [17], [18].

2.1.5 Quantification macroscopique

A l'échelle macroscopique, la dynamique et l'intensité du colmatage sont quantifiées au travers soit (i) de la chute de débit de perméation, dans le cas d'une filtration à pression constante, soit (ii) de l'augmentation de la pression de filtration (pression transmembranaire, PTM) si l'on travaille à débit de perméation constant [38]. Dans le cas du fonctionnement à flux constant, le colmatage entraîne une augmentation progressive de la résistance hydraulique de la membrane. La mesure de la PTM permet de réaliser le suivi de cette évolution en cours d'opération. La PTM est généralement mesurée en continu, grâce à des capteurs de pression situés aux bornes du module membranaire.

La formule suivante permet d'obtenir la PTM de part et d'autre de la barrière membranaire (incluant les composés retenus à l'instant t) (Eq. I.1) :

$$PTM = \Delta P = P_{amont} - P_{perméat} \quad (I.1)$$

Avec :

PTM = Pression transmembranaire ou ΔP (Pa)

P_{amont} = Pression mesurée à l'amont de la membrane (Pa)

$P_{perméat}$ = Pression mesurée dans le perméat (Pa)

La résistance hydraulique R du système est déduite de cette mesure en utilisant la loi de Darcy I.2. Cette résistance est supposée égale à la somme des résistances liée à chaque processus de colmatage, augmentée de la résistance hydraulique initiale de la membrane neuve R_m .

$$J = \frac{dV}{Adt} = \frac{\Delta P}{\mu(R_m + R_d + R_{bp} + R_{ads} + R_{biofilm})} \quad (I.2)$$

Avec :

J = Flux de perméat ($m^3/m^2/s$)

V = Volume filtré à l'instant t (m^3)

t = Temps de filtration (s)

A = Surface membranaire (m^2)

ΔP = Pression transmembranaire (Pa)

μ = Viscosité de la suspension (Pa.s)

R_m = Résistance de la membrane neuve (1/m)

R_d = Résistance du gâteau de filtration (1/m)

R_{bp} = Résistance due au blocage de pores (1/m)

R_{ads} = Résistance due aux processus d'adsorption (1/m)

R_{bio} = Résistance du biofilm (1/m)

Ainsi, en connaissant la résistance de la membrane neuve (R_m), il est possible de calculer la résistance de colmatage globale. Cependant, comme décrit précédemment, la PTM reste une mesure globale de l'ensemble des processus de colmatage (adsorption, dépôt, blocage de pores, polarisation de concentration, biofilm). Il est néanmoins possible de différencier ces mécanismes grâce à des étapes progressives de lavage des membranes ; le colmatage externe étant généralement éliminé par lavage hydraulique (action mécanique), tandis que des lavages chimiques successifs (acide, base, eau de javel) permettent de s'affranchir d'une partie du colmatage interne (autre que blocage mécanique de pores qui peut être éliminé par rétro-lavage) [44], [45]. Il est alors question de colmatage réversible et irréversible par voie hydraulique.

2.2 Colmatage membranaire réversible et irréversible

Selon le lien entre les agents colmatants et la membrane, les phénomènes de colmatage sont classiquement subdivisés en trois catégories vis-à-vis des étapes de lavages habituellement utilisées dans les Bàm [46], [2] :

1. La fraction hydrauliquement réversible qui peut être réduite par :

- (a) Circulation tangentielle d'un fluide (suspension et/ou gaz) à la surface externe de la membrane et relaxation (arrêt momentané de la filtration). Cette circulation tangentielle permet d'arracher par cisaillement les composés déposés en surface externe de la membrane, qui sont alors emportés dans le flux tangentiel en circulation.
- (b) Rétrolavage momentané, réalisé par circulation inverse de perméat vers la suspension à filtrer. Ceci permet d'une part, le débouchage hydraulique des pores, et d'autre part, la déstructuration du dépôt, voire du biofilm, présent en surface membranaire et qui est alors plus facilement arraché par le flux tangentiel imposé.

2. Le colmatage réversible par voie chimique, aussi appelé colmatage irréversible (sous-entendu par voies hydrauliques ; cisaillement tangentiel ou rétro-lavage). Il concerne généralement l'élimination des composés adsorbés en surface et dans les pores de la membrane. La modification du pH et/ou du degré d'oxydation par trempage dans des solutions alcalines, acides ou oxydantes, permet la désorption de composés sorbés, voire la solubilisation de composés précipités sur la surface membranaire et dans les pores.
3. Le colmatage résiduel, incluant l'usure des membranes, qui se met en place progressivement. Il n'existe pas de moyen de s'en affranchir, obligeant sur le long terme au remplacement des membranes, voire du système membranaire complet (module).

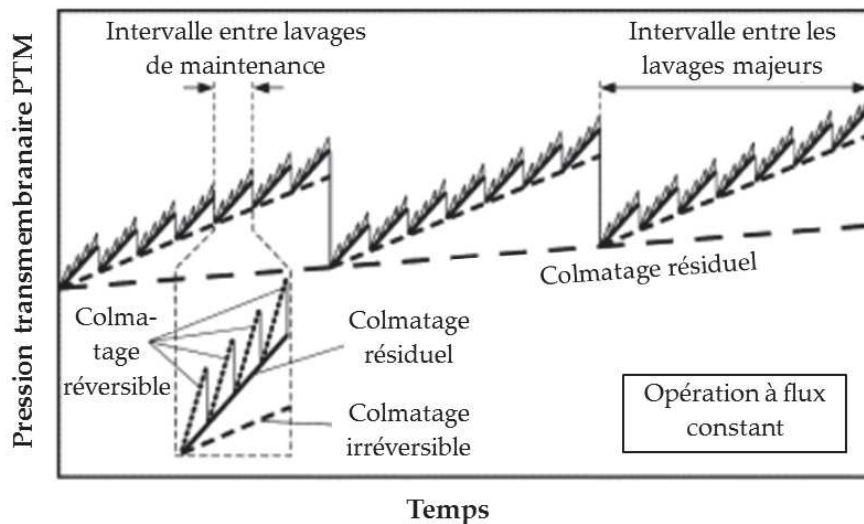


Figure I.3 – Représentation schématique des différents types de colmatage par la mesure de la PTM [1]

La Figure I.3 montre ainsi l'évolution de la PTM en cours de filtration et l'effet macroscopique des stratégies de décolmatage.

Cependant, les phénomènes de colmatage ne peuvent être entièrement maîtrisés par des lavages hydrauliques ou chimiques en cours d'opération. De plus, cette maîtrise du colmatage engendre une dépense énergétique conséquente. Ceci diminue la productivité de la station et augmente son coût de fonctionnement au travers de la maintenance régulière des membranes ; nettoyage par aération, contre-lavage, lavage chimique et remplacement des membranes ayant une durée de vie moyenne 5 à 7 ans pour les membranes organiques [47], [48], [49]. Il est donc primordial d'identifier et quantifier les espèces colmatantes, ainsi que

les conditions opératoires dans lesquelles elles sont présentes dans le BâM, pour contrôler en amont les phénomènes de colmatage.

2.3 Familles de composés et colmatage membranaire

2.3.1 Classification des composés des boues activées

Les boues activées sont une matrice extrêmement complexe. Pour les décrire simplement, elles sont habituellement fractionnées par classe de taille. Leurs proportions et tailles respectives varient suivant les études, du fait de l'utilisation de méthodes expérimentales différentes et des variations de propriétés des boues en fonction des conditions de fonctionnement choisies (Table I.1) [36], [22].

Table I.1 – Classifications par taille des composés présents dans une boue activée

Fraction dissoute		Fraction particulaire		Références
Soluble	Colloïdale	Supra-colloïdale	Décantable	
< 0,100µm	0,100 - 1,2µm	1,2 - 63µm	> 63µm	[50]
< 0,450µm	0,450 - 1,2µm	> 1,2µm	-	[37]
< 0,001µm	0,001 - 1µm	1 - 100µm	> 100µm	[51], [23]
< 10 - 3µm	1 - 10µm	1 - 100µm	> 100µm	[52]

Globalement, les particules ayant un diamètre allant de la centaine de µm (particules décantables) à environ 1 µm (particules supra-colloïdales) sont considérées comme la fraction particulaire. Cette fraction est constituée de floccs, de bactéries en suspension et des fragments inertes, souvent regroupés sous le terme de matières en suspension (MES, MLSS en anglais). Les fractions colloïdale et soluble sont quant à elles regroupées dans la fraction dissoute [53]. La distinction entre la nature organique et inorganique est également faite pour décrire les différents phénomènes de colmatage [23]. Ainsi, ces différentes fractions sont associées à différents types de colmatage.

2.3.2 Colmatage par la fraction organique particulaire

De nombreuses études ont été réalisées sur le colmatage membranaire par les MES. Etant donnée leur taille, les MES ont très vite été considérées comme les principaux responsables du colmatage, via la formation d'un gâteau de filtration [54], [31]. Cependant, leur rôle n'est pas si évident et à ce jour il n'existe pas de consensus concernant leur implication dans les mécanismes de colmatage [2].

Pour des concentrations en MES élevées, certaines études ont mis en évidence un fort

potentiel de colmatage [55], ou encore une accélération du colmatage par dépôt rapide de floccs sur la surface membranaire [56]. Au contraire, d'autres études ont montré un impact positif, voire inexistant, des MES sur le colmatage [31]. Tandis que d'autres travaux ont montré des effets différents suivant les concentrations en MES étudiées. En effet, Rosenberg *et al.* [57] ont montré qu'en dessous de 15g/L, le colmatage est réduit avec l'augmentation de la concentration en MES et qu'au dessus de 15g/L, le résultat inverse a été observé. Suivant les temps de séjour des boues, Grelier *et al.* (2006) [58] ont également montré des variations de l'impact des MES sur le colmatage.

Au delà de ces différentes observations, Le-Clech *et al.* (2006) [31] avance que les phénomènes de dépôts de particules et la résistance spécifique du dépôt sont dépendants de la taille des particules et des conditions locales de turbulence. Ainsi, d'après les mécanismes de transfert de masse, il existe un diamètre maximal de particule pouvant être déposée à la surface d'une membrane. Dans un BâM, la membrane étant en permanence soumise à un flux tangential, les plus grosses particules ne peuvent pas se déposer. Ceci laisse place à la formation d'une couche de dépôt plus mince, constituée de composés plus petits.

Les grosses particules présentes dans la suspension ont ainsi très peu d'effet sur le colmatage en comparaison avec les composés plus petits, contenus dans la fraction dissoute des boues activées.

2.3.3 Colmatage par la fraction organique dissoute

Ce type de colmatage est généré par l'accumulation sur et dans la membrane de protéines, polysaccharides, acides humiques et autres substances organiques. Ces composés sont présents sous forme soluble ou colloïdale, constituant un mélange extrêmement complexe regroupé sous le terme matière organique dissoute (DOM, Dissolved Organic Matter) [40], [59].

Malgré sa petite taille comparée à celle des floccs ou bactéries, cette fraction des boues activées a été identifiée comme celle générant le plus de colmatage dès 1998. En effet, Wiesniesky *et al.* (1998) [60], après avoir isolé les fractions particulaire, colloïdale et dissoute de boues activées, ont démontré que les fractions colloïdale et soluble représentaient 25% et 52% de la résistance membranaire, respectivement, contre 23% seulement pour la fraction particulaire. Le-Clech *et al.* (2006) [31], ont noté lors d'une revue bibliographique que la

contribution relative des fractions soluble et colloïdale à l'ensemble des mécanismes de colmatage est comprise entre 17% et 81%. La plupart des travaux sur le colmatage membranaire dans les Bàm mettent en évidence la contribution majeure de la DOM dans l'ensemble des mécanismes de colmatage. Ainsi, les composés contenus dans la DOM font partie des agents principaux du colmatage dans les Bàm [61], [62], [63], [16].

Cependant, dû à la complexité de la composition de la DOM, de nombreuses questions restent en suspens. A ce jour, il n'existe pas de consensus sur les composés de la DOM qui sont les majeurs responsables du colmatage, ainsi que sur les mécanismes auxquels ils sont reliés. Lors de son étude bibliographique sur le colmatage, Drews (2010) [2], a ainsi relevé cette inconsistance entre les différents travaux et la nécessité d'uniformiser les techniques analytiques, ainsi que la nomenclature.

2.3.4 Colmatage par la fraction inorganique dissoute

Le colmatage membranaire peut également être initié par des espèces inorganiques. Des études ont noté un impact notable de la présence de certains cations métalliques. Ces derniers peuvent interagir avec des biopolymères, sur des groupements fonctionnels spécifiques, pour former des complexes organiques-inorganiques [64]. Jermann *et al.* (2007) [65], ont également noté la formation de complexes entre la matière organique (alginate, acides humiques ou mélange des deux) et des ions calcium. De ces interactions, résultait un type de colmatage beaucoup plus dommageable que lorsque les tests avaient été faits avec la matière organique seule. Ce phénomène serait expliqué par la formation d'un gel initié par la présence des complexes organiques-inorganiques. Cette observation a été mise en évidence dans d'autres études et citée dans la revue récente sur le colmatage membranaire réalisée par Meng *et al.* (2017) [16].

Le colmatage généré exclusivement par les espèces inorganiques existe également. Il est alors question de phénomènes de précipitation d'ions à la surface de la membrane du Bàm (scaling). Ainsi, les ions Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} et OH^- peuvent réagir et précipiter si leur concentration de saturation est atteinte au voisinage de la membrane, engendrant de ce fait du colmatage inorganique. Cependant, dans les procédés de filtration membranaire basse pression (MF/UF), le colmatage inorganique exclusif reste minoritaire devant le colmatage organique. Il a lieu principalement en nanofiltration (NF) ou osmose

inverse (OI), où les sels sont extrêmement concentrés au voisinage de la membrane du fait des grandes pressions appliquées.

Il est ainsi possible de conclure que, dans les procédés de traitement des eaux usées domestiques par Bàm, ce sont des composés contenus dans la fraction dissoute (colloïdale et soluble), ou DOM, qui sont à majoritairement à l'origine du colmatage, devant ceux contenus dans les fractions organique particulaire et inorganique dissoute. Néanmoins, la DOM est constituée de composés de nature et taille diversifiées, pouvant avoir des impacts variés sur la membrane. Il est donc nécessaire d'identifier les composés réellement impliqués pour comprendre et décrire les mécanismes de colmatage auxquels ils sont associés.

3 Caractéristiques et propriétés colmatantes de la Matière Organique Dissoute (DOM)

3.1 DOM : définitions et description

Les premières études sur la matière organique présente dans les eaux se sont portées sur la DOM contenue dans les eaux de surface ou souterraines, c'est-à-dire la matière organique dite naturelle (NOM, Natural Organic Matter). En effet, les chercheurs se sont très vite rendu compte du rôle central joué par la NOM dans les échanges entre les organismes vivants et les différents réservoirs de l'environnement. Ainsi, la matière organique est ubiquiste dans les eaux de tous types et présente sous des formes extrêmement variées, rendant son étude parfois délicate [66]. Dans un premier temps, il est donc nécessaire de procéder à une description détaillée quant aux origines et aux appellations liées à la DOM.

La définition de la NOM est au croisement entre différentes disciplines scientifiques : la chimie, la physique et la biologie. C'est le résultat de la dégradation et de la condensation de molécules issues de la biomasse principalement [67], [68]. C'est donc un ensemble de molécules issues de la synthèse, du rejet ou de la dégradation des êtres vivants, mais contenant également des fragments biologiques sans modification. Ces molécules sont un mélange hétérogène en terme de taille, étant donné qu'elles peuvent avoir une masse molaire comprise entre 400Da et 3000Da [69].

Concernant leur classification, deux familles distinctes ont été identifiées dans l'étude de

la NOM : les biomolécules et les géomolécules.

- Molécules issues de l'activité biologique (Biomolécules) : Ce sont les molécules directement issues de la dégradation des êtres vivants via différents mécanismes d'ordre biologique (lyse bactérienne, chaîne alimentaire), physique (changements de température, changements de pression) ou chimique (hydrolyse, photolyse). Elles ont une réactivité dite biologique, c'est-à-dire qu'elles peuvent être réintroduites en partie dans des processus métaboliques du vivant. En effet, ce sont principalement des acides aminés, protéines, lipides, sucres et polysaccharides [70]. La partie restante peut subir différents types de processus de modification ; (i) transformation en géomolécules, (ii) dégradation directe en nutriments minéraux ou (iii) association et incorporation au sein même de géomolécules existantes [71]. Les biomolécules constituent seulement 15 à 20% du carbone organique contenu dans la NOM [72].
- Molécules issues de la dégradation avancée de la matière organique (Géomolécules) : ce sont des molécules issues de la dégradation avancée de la matière organique passée par le stade préalable de biomolécules et qui sont souvent associées aux substances humiques (HS, Humic Substances). En effet, l'hypothèse prédominante sur leur origine est que les biomolécules ont été transformés en géomolécules suivant un processus de dégradation ou d'association [67]. Ces molécules composent la majeure partie de la NOM, soit 60 à 75% du carbone organique contenu dans la NOM [73]. Ce sont des molécules difficilement ou très difficilement biodégradables. En effet, dans les eaux de surfaces ou souterraines, elles peuvent avoir des dizaines, voire quelques milliers d'années [74].

Ce fractionnement a été élaboré pour la NOM correspondant à la DOM des eaux peu chargées en matière organique, comme l'eau alimentant les réseaux d'adduction d'eau potable. Néanmoins, au cours du cycle de l'eau lié à l'activité humaine, la DOM est profondément modifiée. A la NOM initialement présente s'ajoute la matière organique issue de l'activité anthropique, c'est-à-dire la matière organique facilement biodégradable (MO_{FD}) et les produits difficilement dégradables, issus de l'industrie chimique ou pharmaceutique (produits phytosanitaires, cosmétiques et colorants). Ces derniers sont qualifiés de micropolluants (concentration inférieure au $\mu\text{g/L}$) et seront regroupés sous le terme OMP (Organic MicroPollutants) dans cette étude.

Ensuite, lors du traitement biologique, la matière organique dissoute contenue dans les eaux usées est profondément modifiée (Figure I.4). La DOM contenue dans le surnageant

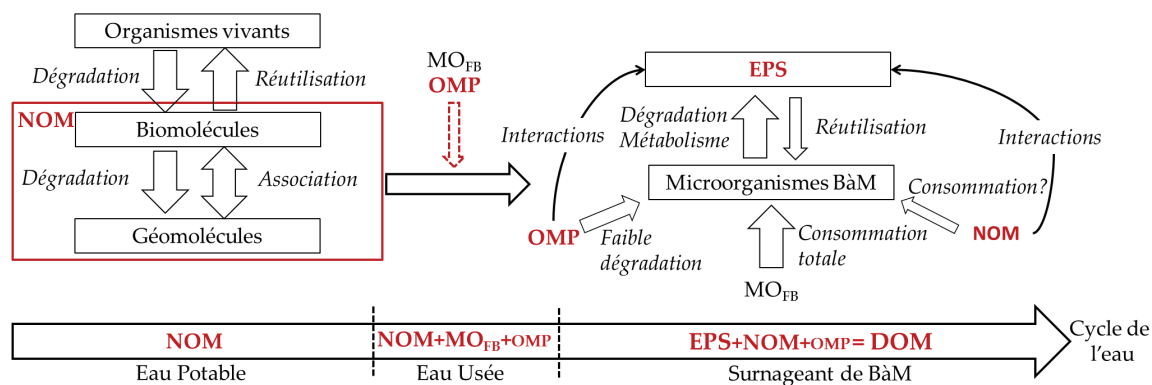


Figure I.4 – Représentation schématique de l’origine et du devenir des composés de la DOM au cours du cycle de l’eau avec NOM, OMP, MO_{FB} et EPS, la matière organique naturelle, les micropolluants issus de l’activité anthropique, la matière organique facilement biodégradable et les substances extracellulaires polymériques, respectivement

des boues de B&M serait principalement produite au sein du bioréacteur sous la forme de substances extracellulaires polymériques (EPS, Extracellular Polymeric Substances) [75], [59], [76], [29]. En effet, la MO_{FB} est vite dégradée pour permettre la croissance cellulaire et la formation de substances extracellulaires polymériques (EPS, Extracellular Polymeric Substances) ayant des rôles diversifiés. Les EPS forment alors une gangue mucillagineuse autour des bactéries pour assurer leur protection et leur adhésion aux parois et dans les floccs, mais elles ont également un rôle de réserve [77]. Concernant la NOM et les OMP, ils ne constituent plus qu’une faible proportion de la DOM du surnageant des boues [78], [79], [29].

C’est à partir de ce constat qu’un grand nombre d’études, portant sur le colmatage membranaire dû aux composés de la DOM, se sont concentrées sur les produits de l’activité microbienne. Cependant, dans une revue complète sur le colmatage, Drews (2010) [2] a noté la grande diversité de résultats et la difficulté générale à trouver un consensus concernant les l’implication des EPS de la DOM dans les mécanismes de colmatage. Deux causes principales ont été avancées : l’utilisation d’un grand nombre de termes se recoupant parfois et l’utilisation de techniques analytiques ou d’extraction se recoupant également et pouvant ne pas correspondre aux termes utilisés (Figure I.5). En effet, dans ces études, il peut être question d’EPS, de produits microbiens solubles (SMP, Soluble Microbial Products), d’amas de biopolymères (BPC, Biopolymer Clusters) ou encore de d’exopolymères particuliers transparents (TEP, Transparent Exopolymer Particules).

Toutefois, la majorité des études sur le colmatage organique ont noté qu’il était généré

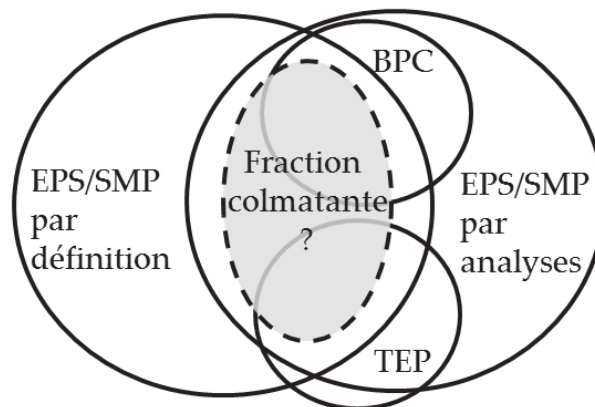


Figure I.5 – Représentation schématique du recouvrement entre définitions et méthodes analytiques dans les études sur le colmatage [2]

principalement par des produits issus de l'activité microbienne, qualifiés d'EPS et définis tels que des co-produits réactionnels de l'activité biologique. Ils se trouvent sous forme liée à la surface des cellules microbiennes ou des floccs (EPS-liées), ou sous forme dissoute dans la phase liquide (EPS-dissoutes). Les EPS dissoutes sont généralement appelées SMP. Ce sont précisément l'ensemble des produits organiques dissous libérés en solution lors de l'activité, croissance ou lyse bactérienne (Figure I.6) [78], [63].

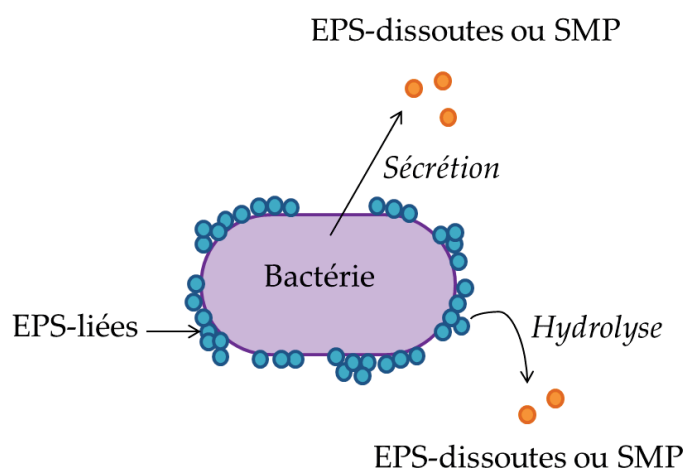


Figure I.6 – Liens entre bactéries et EPS/SMP

Les SMP peuvent également être subdivisés en produits associés à l'utilisation de substrat (UAP, Utilization-Associated Products) et produits associés à la biomasse (BAP, Biomass-Associated Products). Les UAP sont ainsi des produits du métabolisme bactérien ayant lieu en présence de substrat et les BAP sont des produits sécrétés lors de la respiration endogène ou associés à la mort cellulaire (Figure I.7) [79], [80], [81]. Les UAP sont généralement plus

facilement biodégradables que les BAP, tandis que ces derniers ont tendance à s'accumuler dans le système [82]. Cette distinction entre UAP et BAP est faite dans le cas d'études sur les origines des SMP. Cependant, pour l'étude du colmatage, c'est généralement le terme global de SMP qui est conservé.

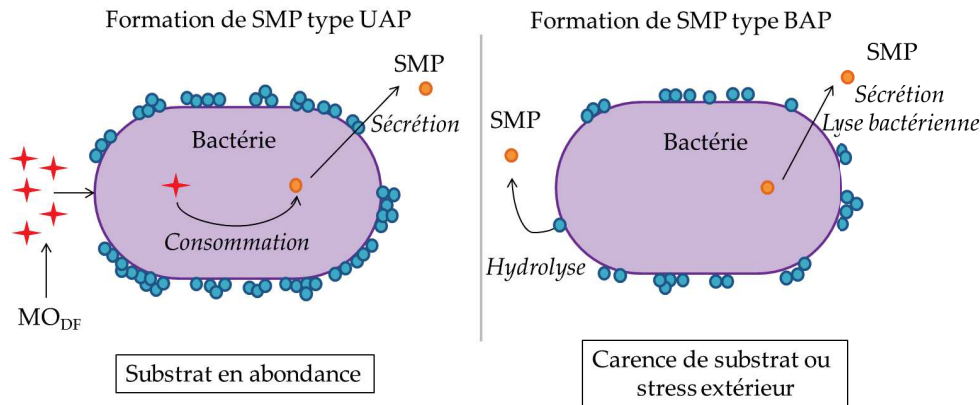


Figure I.7 – Distinction entre les métabolismes de sécrétion des SMP de type UAP et BAP

Du fait de la prédominance des SMP dans la DOM, ce sont les termes SMP ou EPS-solubles qui sont le plus souvent utilisés dans les études sur le colmatage membranaire par la DOM [83], [61], [62]. Néanmoins, la contribution de l'intrant reste souvent difficile à estimer [84]. C'est pourquoi, le terme de DOM sera utilisé dans ce mémoire de thèse pour qualifier la matière organique soluble et colloïdale contenue dans le surnageant des boues activées de BâM.

La composition exacte de la DOM ne peut être déterminée de manière précise et complète, car c'est un mélange de milliers de composés chimiques. Ainsi, de nombreuses techniques analytiques ont été développées et appliquées pour caractériser la DOM, allant de la quantification par familles de molécules, à l'identification de groupements fonctionnels.

3.2 Méthodes analytiques

De nombreuses méthodes sont utilisées pour l'étude de la DOM. Ainsi, la mesure du carbone organique total/carbone organique dissous (COT/COD) et du $SUVA_{254}$, (ratio de l'absorbance à 254nm et du COT de l'échantillon) sont des techniques très répandues pour le suivi de la DOM. Les méthodes colorimétriques de Lowry/Lowry modifiée et de Dubois sont également des techniques privilégiées pour la mesure des protéines et des polysaccharides, respectivement. En fonction des besoins de l'étude, l'identification de groupements

fonctionnels spécifiques peut se faire grâce à des techniques du type FTIR (Fourier Transform Infrared) ^{13}C NMR (^{13}C Nuclear Magnetic Resonance), Pyr-GC/MS (Pyrolysis coupled with Gas Chromatography and Mass Spectroscopy).

Ainsi, le choix de l'utilisation de ces techniques analytiques dépend des nécessités de l'étude : information quantitative, information sur les groupements, etc. Dans la Table [I.2](#), une description plus détaillée de ces techniques, ainsi que de leurs avantages et inconvénients majeurs, est proposée.

Table I.2 – Description des techniques analytiques couramment utilisées pour l'étude de la DOM, ainsi que leurs avantages et inconvénients

Méthode	Principe	Avantages	Inconvénients	Références
Carbone organique total/Carbone organique dissous (COT/COD)	Mesure de la concentration carbone organique après minéralisation totale du carbone en CO ₂ . Le COD s'obtient de la même façon, mais après filtration à 0,45µm	Pas de réactifs, moins d'incertitudes que la mesure de la demande chimique en oxygène (DCO) (limite de détection <0,1ppm)	Information quantitative globale de la DOM, mais non qualitative	[73]
SUVA ₂₅₄	Ratio de l'adsorbance UV à 254nm et du COT	Pas de réactifs, indicateur d'aromaticité (SUVA > 4 : molécules aromatiques hydrophobes, SUVA < 2 : molécules hydrophiles)	Interférences avec les nitrates à forte concentration, information qualitative	[85], [86], [87]
Lowry/Lowry Modifié (Frølund)	Formation d'un complexe coloré entre un réactif et les protéines, nécessitant un étalonnage préalable avec de la BSA	Quantification des protéines. La méthode de Lowry modifiée permet de s'affranchir des interférences liées aux substances humiques	Manutention importante, interférences avec d'autres composés organiques comme les substances humiques (Lowry), mais aussi les ions calcium	[24], [25], [77], [88], [89]
Méthode d'Anthrone/Dubois	Formation d'un complexe coloré entre un réactif et les sucres totaux réducteurs, nécessitant un étalonnage préalable avec du glucose	Quantification des polysaccharides	Manutention importante, non sélective pour la mesure des sucres	[26]
FTIR	Mesure de la quantité d'énergie absorbée lorsque la fréquence de la lumière infrarouge varie pour identifier des groupements fonctionnels	Echantillons liquides ou solides, identification des groupements spécifiques de la DOM	Information qualitative sur les groupements	[49], [90], [22], [53]
¹³ C NMR	Mesure des différences d'énergie entre les différents états du spin nucléaire en plaçant l'échantillon dans un champs magnétique	Identification des groupements spécifiques de la DOM en relation avec leur configuration dans l'espace	Information qualitative sur les groupements	[3],[91], [53]
Pyr GC/MS	Analyse quantitative des fragments de la DOM par thermolyse, donnant également une information structurelle	Les fragments de composés récalcitrants peuvent être identifiés et quantifiés	Dans le cas d'échantillons complexes l'analyse requière du temps et une expertise avancée	[49], [90], [22], [53]

Depuis deux décennies, deux méthodes analytiques sont de plus en plus utilisées dans les études du colmatage par la DOM contenue dans le surnageant de Bàm; la fluorescence d'excitation/émission tridimensionnel (3DEEM, Three-Dimensional Excitation and Emission fluorescence Matrix) et la chromatographie liquide d'exclusion stérique couplée avec des détecteurs de carbone organique, azote organique et UV (LC-OCD-OND-UVD, Liquid Chromatography coupled with Organic Carbon Detector, Organic Nitrogen Detector and UV Detector) [4], [92].

3.2.1 Fluorescence3D ou 3DEEM

La 3DEEM se base sur le phénomène optique selon lequel les molécules organiques absorbent et émettent de la lumière. Ainsi, quand une molécule absorbe de la lumière, un de ses électrons est porté à un niveau d'énergie supérieur (état excité). L'électron excité peut ensuite perdre son excès d'énergie absorbé via de nombreux mécanismes, dont l'émission d'un photon (fluorescence). Les groupements moléculaires absorbant et réémettant de l'énergie lumineuse sont qualifiés de fluorophores [66]. Pour réaliser une mesure de 3DEEM, un spectrofluoromètre mesure l'intensité de la lumière émise par l'échantillon pour différentes combinaisons de longueurs d'ondes d'excitation et d'émission [93].

Bien que certains groupes de molécules ne fluorescent pas, comme les polysaccharides [94], la 3DEEM est une méthode appliquée dans de nombreuses études sur la DOM dans les Bàm [95], [96], [4]. Elle permet de décrire la composition chimique des composés fluorescents de la DOM [66], [62]. Ce sont en particulier les molécules ayant des cycles aromatiques condensés et/ou des chaînes aliphatiques fortement insaturées qui peuvent être détectées par 3DEEM [97] [98]. A ce jour, cinq familles de fluorophores, regroupés par zones, ont été identifiées et associées à des molécules de nature protéinique et humique. Ces fluorophores sont sujets à différents types de classification et nomenclature en fonction des sujets d'étude [66].

- L'une d'entre elle consiste à classifier les spectres de fluorescence en pics A, C, M, B et T, permettant de différencier les pics suivant l'hydrophobicité des molécules fluorescentes (Figure I.9a) [99]. Néanmoins, l'utilisation de cette classification requière l'utilisation préalable sur une colonne échangeuse d'ions [66].
- Une autre classification couramment utilisée pour la caractérisation de la DOM dans le traitement des eaux usées est celle proposée par Chen *et al.* (2003) [3] (Figure I.8 et Table

I.3).

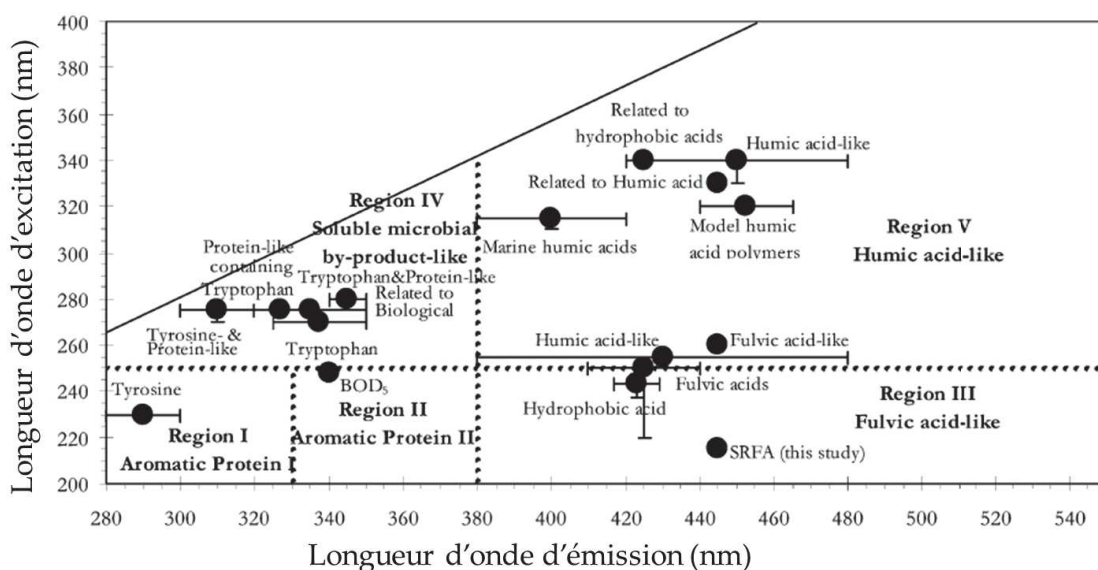


Figure I.8 – Cartographie des spectres de 3DEEM et différents fluorophores associés de Chen *et al.* (2003) [3]

Table I.3 – Description des fluorophores associés à la cartographie de Chen *et al.* (2003) [3]

Région	Fluorophores associés
Région I	Protéines-like aromatiques de type 1 (Tyrosine)
Région II	Protéines-like aromatiques de type 2
Région III	Acides fulviques-like
Région IV	Produits microbiens solubles-like (Tryptophane)
Région V	Acides humiques-like

Cette nomenclature est dérivée des études faites sur la NOM avec l'utilisation de molécules modèles telles que des acides humiques aquatiques ou des acides aminés. Malgré la composition différente de la DOM du surnageant de boues activées (section 3.1), celle-ci présente néanmoins les mêmes types de fluorophores que la NOM. C'est pour cela que la nomenclature de Chen utilise des termes tels que protein-like ou humic-like. Ce sont des molécules ayant des propriétés de fluorescence proches de celles des protéines ou acides humiques, du fait de la présence de fluorophores identiques ou proches dans leur composition chimique.

La 3DEEM présente de nombreux avantages. En effet, en plus de fournir des informations sur les caractéristiques de la DOM, c'est une technique simple d'usage, non-destructive, nécessitant de faibles volumes pour l'analyse [100], [4]. L'aspect le plus attractif de cette mé-

thode est la possibilité de mise en place de mesures en ligne, notamment pour la prévision du colmatage [101], [93].

Différentes méthodes et indicateurs ont été développés et utilisés dans de nombreuses études pour exploiter les données de 3DEEM.

- La plus classique est la méthode dite de «peak-picking», consistant à noter l'intensité du maximum de fluorescence dans une région donnée ou celle obtenue pour des couples d'excitation/émission de référence [99], [95], [102]. Cette méthode est souvent privilégiée dans l'étude de la DOM car elle permet de distinguer différents types de composés. Cependant, elle restreint l'information exploitable, étant donné qu'un seul point est considéré pour chaque pic.
- Les indicateurs f_{450}/f_{500} , HIX (Humication Index) et BIX (Biological Index) peuvent être calculés, en utilisant les équations Eq. I.3, Eq. I.4 et Eq. I.5, pour identifier les origines de la DOM. Ainsi, des valeurs élevées de f_{450}/f_{500} et BIX et des valeurs faibles de HIX, indiquent une secretion récente DOM via l'activité biologique [103], [104].

$$\frac{f_{450}}{f_{500}} = \frac{I(\lambda_{370}, \lambda_{450})}{I(\lambda_{370}, \lambda_{500})} \quad (\text{I.3})$$

$$HIX = \frac{\sum_{em=435}^{em=480} I(\lambda_{254} \lambda_{em})}{\sum_{em=300}^{em=345} I(\lambda_{254} \lambda_{em})} \quad (\text{I.4})$$

$$BIX = \frac{I(\lambda_{310}, \lambda_{380})}{I(\lambda_{310}, \lambda_{430})} \quad (\text{I.5})$$

Avec :

$I(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ = Intensité de fluorescence du couple excitation/emission (A.U)

λ_{ex} = Longueur d'onde en excitation (nm)

λ_{em} = Longueur d'onde en émission (nm)

- Une autre méthode, développée par Chen *et al.* 2003 [3], propose d'intégrer les pics de fluorescence, ou volume de fluorescence, pour conserver l'intégralité de l'information de fluorescence et exploiter de façon semi-quantitative le signal. Le volume de fluorescence est alors utilisé pour quantifier le nombre de fluorophores dans une zone et pour calculer leur pourcentage par rapport au nombre total de fluorophores dans l'échantillon : le

pourcentage de fluorescence par région. Cette méthode porte le nom de FRI (Fluorescence Regional Integration) et s'applique aux régions définies par Chen *et al.* (2003) (Figure I.8 et Table I.3).

- Pour pallier à d'éventuels problèmes de chevauchement entre certains pics, la méthode PARAFAC (Parallel Factor Analysis) a également été appliquée à des spectres de 3DEEM (Figure I.9). Cette méthode permet d'isoler statistiquement les fluorophores pouvant se chevaucher, facilitant ainsi l'analyse [105].

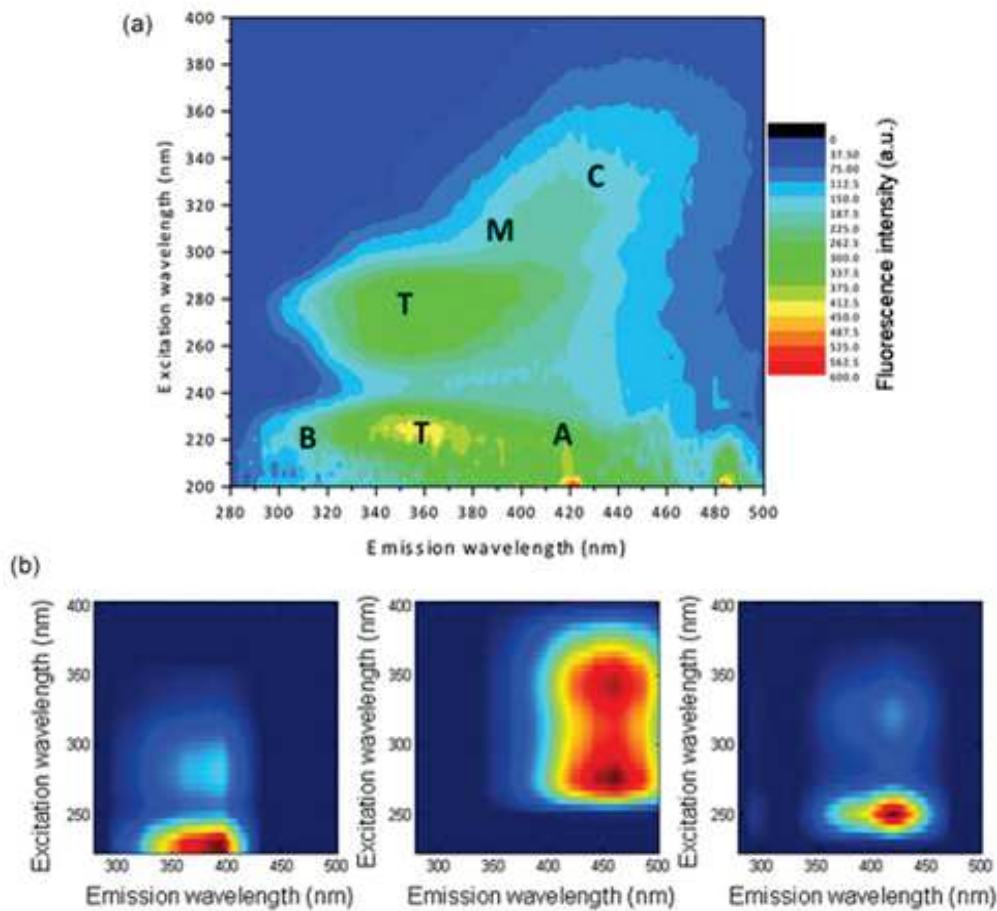


Figure I.9 – Exemple d'une analyse par PARAFAC faite sur un spectre de 3DEEM a) spectre initial et b) fluorophores identifiés [4]

Cette technique étant une méthode statistique, elle nécessite toutefois un grand nombre de spectres (environ 70), ce qui peut être limitant pour une application de suivi en ligne [93].

Néanmoins, ces méthodes d'extraction et d'exploitation des données de 3DEEM ne permettent pas d'établir un lien direct l'intensité de fluorescence et la quantité de molécules associées aux fluorophores Ceci fait de la 3DEEM une méthode principalement qualitative ou semi quantitative, pour laquelle il n'existe pas de méthode d'extraction et d'exploitation

standardisée des données. Cet aspect lié à la 3DEEM est nécessaire pour franchir le cap du suivi en ligne par fluorescence [4]. Le second désavantage de cette technique est que, seules les molécules contenant un des cinq types de fluorophores peuvent être identifiées, limitant ainsi l'information sur la DOM qui ne fluoresce pas (acides aminés non aromatiques, polysaccharides). Il est donc crucial d'estimer si malgré ce désavantage majeur, la 3DEEM peut, combinée avec d'autres techniques, être un indicateur pour suivre facilement et rapidement la nature et l'état de la DOM au cours du traitement des eaux usées par Bàm.

Un autre point majeur lié à la 3DEEM et l'exploitation des données concerne l'existence de phénomènes de quenching. Ceux-ci peuvent être dus à des concentrations importantes en DOM, qui amplifient les phénomènes de fluorescence. C'est-à-dire que les photons réémis par les composés fluorescents peuvent exciter à leur tour des composés de la DOM amplifiant le signal d'excitation initial [106]. Les interactions des composés fluorescents avec d'autres composés, peuvent également diminuer l'intensité de fluorescence mesurée dans certaines zone si les interactions se font au niveau de fluorophores par exemple [107]. Ces phénomènes sont des phénomènes majeurs à prendre en compte pour réaliser des mesures de 3DEEM et l'exploitation des résultats [4].

3.2.2 LC-OCD-OND-UVD

La chromatographie d'exclusion stérique (HPLC-SEC, High Performance Liquid Chromatography coupled with Size Exclusion Chromatography) est une méthode intéressante pour séparer la DOM en terme de taille, facteur important dans le cas de la filtration membranaire (section 2.1). La colonne peut être associée à de nombreux détecteurs, notamment de carbone organique (OCD, Organic Carbon Detector), azote organique (OND, Organic Nitrogen Detector) et UV₂₅₄ (UVD, UV Detector). Dans ce cas, la méthode est qualifiée de LC-OCD-OND-UVD. Cette technique a été largement décrite par Huber *et al.* (2011) [5], qui ont ainsi défini cinq familles de molécules en fonction des temps d'élution ou du poids moléculaire (MW, Molecular Weight) (Table I.4).

En plus de donner une information sur la répartition de taille grâce à la HPLC-SEC (LC, Liquid Chromatography), les détecteurs permettent de quantifier le carbone organique et l'azote organique de chaque fraction, par intégration des pics (Figure I.10). Grâce à ces détecteurs, il est également possible de quantifier séparément les protéines et polysaccharides, en émettant l'hypothèse que la totalité de l'azote des bipolymères est issue des protéines [5].

Table I.4 – Description des familles de molécules identifiées par LC-OCD-OND-UVD [5]

Pic	Familles de molécules
Biopolymères (BP, Biopolymers)	Protéines (PN, Proteins) et polysaccharides (PS, Polysaccharides), MW : > 20 000Da
Substances humiques (HS)	Acides humiques et fulviques, MW : 1000Da
Building blocks (BB)	Produits de dégradation des substances humiques, MW : 300-500Da
Acides à faible poids moléculaire (LMW-A, Low Molecular Weight Acids)	Produits finaux de dégradation des molécules organiques ou produits métaboliques bactériens, MW : < 350Da
Molécules neutres à faible poids moléculaire (LMW-N, Low Molecular Weight Neutrals)	Substances faiblement hydrophobes telles que les alcools, aldéhydes, sucres et acides aminés, MW : < 350Da

C'est donc une méthode quantitative pour les fractions identifiables en terme de taille, ce qui en fait une méthode particulièrement attractive pour l'étude de la DOM et du colmatage [108], [109], [92], [110] (section 2.1). Il est possible d'ajouter un détecteur en ligne de fluorescence pour mesurer une intensité de fluorescence à des couples excitation/emission donnés [111], [112].

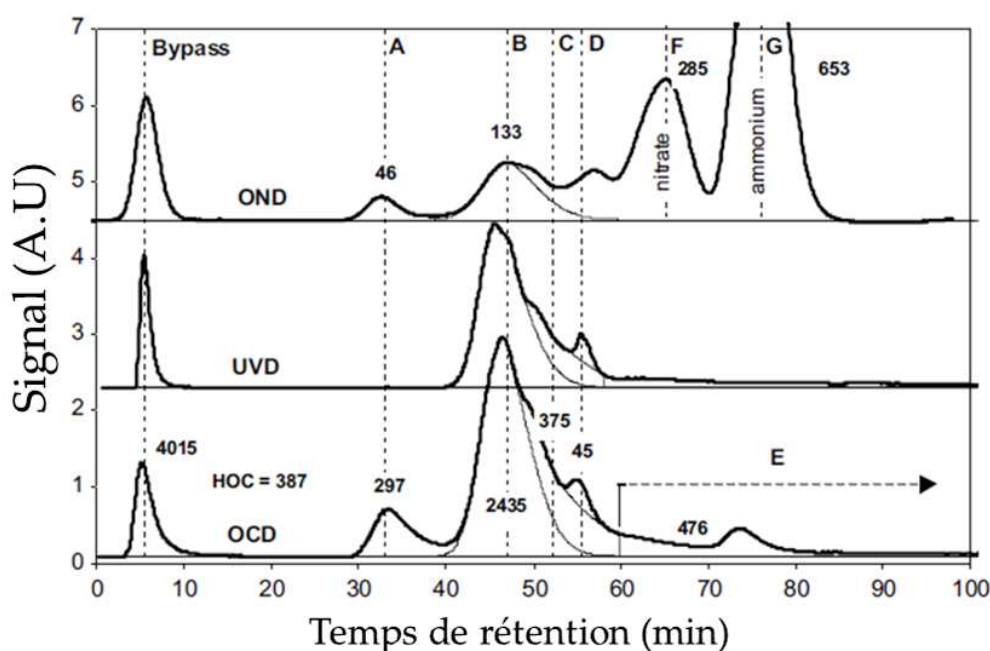


Figure I.10 – Exemple de chromatogramme LC-OCD-OND-UVD réalisé sur des effluents de BâM avec A, B, C, D et E correspondant aux pics des BP, HS, BB, LMW-A et LMW-N, respectivement, et F et G correspondant aux pics des nitrates et de l'ammonium, respectivement [5]

3.3 DOM : caractérisation et colmatage des différentes fractions

Pour décrire les espèces impliquées dans les mécanismes de colmatage parmi les composés de la DOM, celle-ci peut être décrite suivant des fractions de taille différente. En effet,

comme vu précédemment (section 2.1), la taille est une propriété particulièrement importante régissant les mécanismes de colmatage (gâteau de filtration, blocage de pore). Les composés de la DOM ont une large distribution de poids moléculaire allant de moins de 1kDa à plus de 100kDa [113]. Comme décrit précédemment (section 3.2.2), le fractionnement par LC-OCD-OND-UVD développé par Huber *et al.* (2011) permet de séparer par taille les molécules de la DOM [5]. C'est donc ce système de classification qui sera utilisé par la suite pour décrire la DOM et les mécanismes de colmatage qui lui sont associés.

3.3.1 Biopolymères (BP)

Cette fraction correspond aux molécules ayant le plus haut poids moléculaire parmi les composés de la DOM. Ce sont des molécules sécrétées par des organismes vivants, dont la taille est supérieure à 20kDa ou 10kDa suivant les études [92], [114]. Ceci implique qu'ils peuvent être sous forme colloïdale ou soluble [115], [23]. Historiquement, ce sont les protéines et polysaccharides qui ont été identifiés comme principaux constituants des biopolymères et principaux responsables du colmatage membranaire, parmi l'ensemble des constituants de la DOM [88], [109]. Les biopolymères peuvent être associés à plusieurs mécanismes de colmatage dépendant de la nature de ces familles de molécules [116], [88].

3.3.1.1 Nature des biopolymères

- **Protéines** : Une protéine est une macromolécule constituée d'acides aminés liés entre eux par des liaisons peptidiques. On parle de protéine au-delà d'une cinquantaine d'acides aminés et de peptide jusqu'à une dizaine d'acides aminés. Les protéines sont des molécules amphotères possédant des groupements fonctionnels chargés positivement et négativement. Plus le pH est élevé, plus elles sont chargées négativement [117]. Ce sont des molécules aliphatiques, principalement d'origine bactérienne dans les BâM traitant des eaux usées domestiques. Elles peuvent être sous forme tertiaire, c'est-à-dire repliées sur elles-mêmes via des interactions entre les différents acides aminés les constituant (formation de ponts hydrogène et di-sulfure). Ces particularités engendrent une grande diversité de nature, combinée avec une diversité de taille pouvant varier entre 20 à 10kDa [111], [118], [109]. Ceci est lié au fait que les protéines sécrétées par les bactéries peuvent être présentes dans la cellule, mais aussi dans la membrane et la paroi cellulaire, jouant ainsi des rôles différents : transport, métabolisme ou communication [119]. Près de 40% des

protéines sécrétées par les bactéries sont destinées à des fonctions extracellulaires sous forme liée (EPS-liés) ou libre (EPS-libres ou SMP) [120]. Parmi ces protéines, certaines d'entre elles possèdent des acides aminés aromatiques hydrophobes leur conférant des propriétés de fluorescence (Figure I.11).

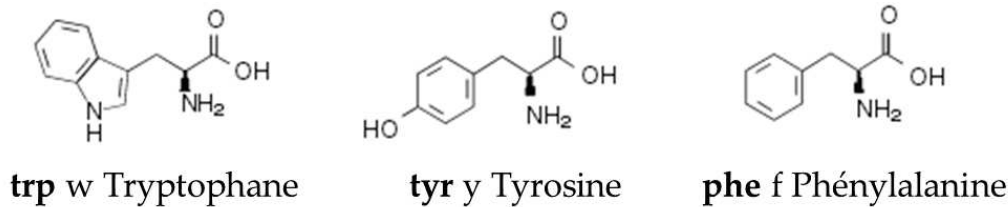


Figure I.11 – Structure des acides aminés (AA, Amino Acids) fluorescents : Tryptophane (Trp), Tyrosine (Tyr) et Phenylalanine (Phe)

- **Polysaccharides** : ce sont des polymères constitués de plusieurs oses liés entre eux par des liaisons osidiques, pouvant également être qualifiés de carbohydrates [121]. Les oses contenant de nombreux groupements hydroxyl, les carbohydrates sont des molécules hydrophiles [116], [104]. Elles ont également un caractère neutre et une taille supérieure à 10kDa [117], [122]. Ce sont des composés présentant une grande diversité de taille et de structure (linéaire, cyclique ou ramifiée), dont les fonctions peuvent être polyvalentes vis-à-vis de l'activité bactérienne [123].

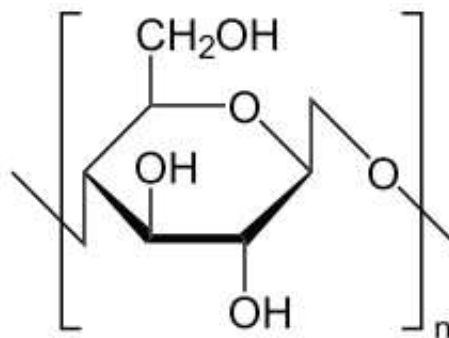


Figure I.12 – Exemple d'ose et de liaison osidique constituant les polysaccharides

Ainsi, les polysaccharides bactériens peuvent être subdivisés en deux classes suivant leur localisation morphologique ; (i) les polysaccharides intracellulaires, situés dans la cellule, la membrane plasmique ou paroi cellulaire pour les bactéries Gram négatif (peptidoglycane, lipopolysaccharides ou polysaccharides capsulaires), dans ce cas ils ont une fonction stockage et structurelle, et (ii) les polysaccharides extracellulaires (cellulose, dextrane, xanthane) qui sont une adaptation cellulaire permettant une meilleure adhésion,

le stockage et la protection contre des stress extérieurs comme la dessiccation [124]. Ce sont majoritairement ces polysaccharides qui sont retrouvés dans le surnageant des Bàm (SMP). Lors de la lyse cellulaire, il est ainsi courant de retrouver des polysaccharides en grande quantité [80].

3.3.1.2 Mécanismes de colmatage

Du fait de leur taille, que ce soit les polysaccharides ou les protéines, les biopolymères ont été identifiés et considérés comme principaux responsables du colmatage parmi les différents composés de la DOM, car ils sont préférentiellement rejetés par la membrane [22], [23], [115]. Cependant, les observations divergent concernant leur implication respective dans les phénomènes de colmatage.

- **Théorie des PS principaux biopolymères impliqués dans les mécanismes de colmatage**

Dans une revue sur le colmatage, Meng *et al.* (2017) [16] ont mis en évidence l'implication prédominante des polysaccharides. En effet, de nombreuses études ont identifié les polysaccharides comme étant dominants dans le surnageant de Bàm et le gâteau de filtration, devant les protéines. Ceci serait dû au fait que certains polysaccharides auraient une taille supérieure à celle de la plupart des protéines et seraient donc plus retenus par la membrane. De plus, il a été montré que les polysaccharides possèdent des propriétés de gélification densifiant le gâteau de filtration [64], [125], [126]. Ces propriétés de gélification sont dues au fait que les polysaccharides contiennent de nombreux blocs de types acide α -guluronique et acide β -mannuronique. Les interactions entre ces blocs permettent la formation de liaisons entre les différents polysaccharides. Ce phénomène est également favorisé par la présence de cations divalents ou multivalents, comme les ions Ca^{2+} , permettant la formation de ponts entre les groupements carboxyl des polysaccharides [65], [77]. Cependant, grâce à la caractérisation plus spécifique des polysaccharides, Kimura *et al.* (2015) [127] ont pu mettre évidence que seuls certains polysaccharides, tels que les polysaccharides capsulaires et les lipopolysaccharides, sont impliqués dans le colmatage membranaire. Cette observation, contribue à limiter l'impact global des polysaccharides.

- **Théorie des PN principaux biopolymères impliqués dans les mécanismes de colmatage**

Une autre partie de la communauté étudiant le colmatage des Bàm a quant à elle identifié les protéines comme responsables majeurs du colmatage membranaire, devant les polysaccharides [128], [62]. En effet, certaines études ont mis en évidence que les protéines

sont présentes en plus grandes concentrations que les polysaccharides [104]. D'autres ont identifié certaines protéines avec des tailles supérieures à la majorité des polysaccharides, entraînant un blocage de pores important et provoquant un colmatage sur le long terme [81], [109]. De même que pour les polysaccharides, des propriétés de gélification sont parfois évoquées [129]. Du fait de leur nature très diversifiée, certaines protéines ont également une nature hydrophobe (protéines aromatiques), favorisant leur adsorption sur la membrane [62]. La cinétique d'adsorption sur la membrane est d'ailleurs primordiale, car sur le long terme elle engendre un changement de la chimie de surface de la membrane [31].

Au-delà de leurs propriétés colmatantes respectives, les protéines et les polysaccharides peuvent également être une source de substrat pour la biomasse contenue dans le Bàm, facilitant le développement du biofilm sur la surface membranaire [130].

De façon générale, les biopolymères sont considérés dans leur ensemble (protéines et polysaccharides) et sont qualifiés comme colmatants majeurs de la DOM du fait de leur taille [49], [22]. Néanmoins, grâce à des techniques de caractérisation plus poussées, d'autres composés de la DOM ont été identifiés comme ayant un rôle primordial dans les phénomènes de colmatage.

3.3.2 Les substances humiques (HS)

De même que la NOM, la DOM est composée de substances humiques (HS) ou géomolécules, comme décrit dans la section 3.1. Certaines études les ont identifiées comme étant les espèces présentes en plus grande quantité dans la DOM [131], [113]. Contrairement à ce qui a souvent été avancé, les HS ne proviennent pas exclusivement de la NOM comme décrit dans la section 3.1. Il a été montré qu'il existe des substances humiques aloctones et autoctones dans les Bàm [96]. Le terme substances humiques-like microbiennes peut alors être employé pour désigner celles produites dans le Bàm. Ceci est sans doute dû à une dégradation avancée des biopolymères des SMP en géomolécules (HS), du fait de l'activité bactérienne particulièrement intense dans le Bàm. Les HS sont étudiées pour leur implication dans les mécanismes de colmatage dans les Bàm, malgré le fait que leur taille soit souvent inférieure à la taille des pores de la membrane (soit environ 1kDa) [132]. Leurs propriétés spécifiques, leurs grandes diversités et leurs interactions potentielles avec les matériaux membranaires ont montré la nécessité d'approfondir les connaissances vis-à-vis de ces composés.

3.3.2.1 Nature des substances humiques

Les substances humiques sont des molécules d'environ 1kDa [133], [5], classiquement subdivisées en trois catégories déterminées selon leur solubilité à différents pH. Ainsi, les acides humiques sont insolubles dans l'eau à un pH inférieur à 2. Les acides fulviques sont solubles peu importe le pH et les humines sont insolubles dans l'eau [66]. Les substances humiques présentes en solution dans la DOM de Bàm sont alors constituées d'acides humiques et fulviques. Il existe des milliers de types de HS, ainsi il n'existe que des structures théoriques de ces molécules (Figure I.13) [66].

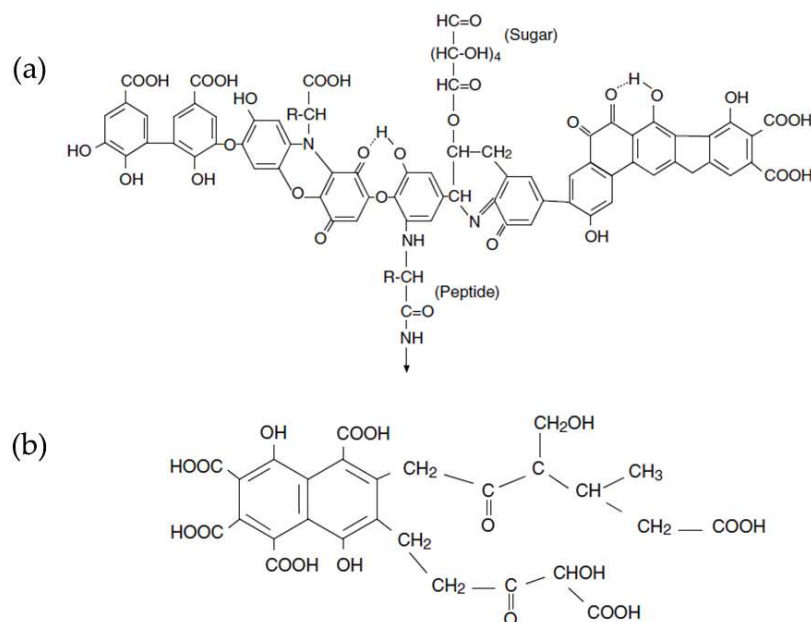


Figure I.13 – Structures théoriques des a) acides humiques et b) acides fulviques

Néanmoins, il est reconnu que ce sont des molécules comportant de nombreux cycles aromatiques apolaires leur conférant un caractère hydrophobe [113]. La présence de groupements carboxyl (-COOH) et hydroxyl (-OH) leur confère également un caractère hydrophile favorisant leur solubilité dans l'eau. La présence de ces groupements permet également la formation de ponts hydrogène avec des molécules ayant des groupements contenant des hétéroatomes négatifs tels que -NH₂, -OH et -C=O [134].

Les HS sont majoritairement présentes sous la forme d'agglomérats de molécules hétérogènes relativement petites, maintenues entre elles par de faibles forces dispersives [135],

[136], [129]. Ce sont des forces hydrophobes (van der Waals, $\pi - \pi$, CH- π) et des ponts hydrogène qui permettent aux molécules de s'agréger sous forme de micelles, forces qui sont d'autant plus grandes que le pH augmente [137], [135].

3.3.2.2 Mécanismes de colmatage

Un certain nombre d'études prennent en compte l'impact des substances humiques sur les phénomènes de colmatage malgré leur petite taille. Elles peuvent contribuer aux mécanismes de colmatage selon deux phénomènes principaux (i) l'adsorption et (ii) le blocage de pores.

- L'adsorption est possible grâce aux propriétés d'hydrophobicité des substances humiques. Comme pour les protéines hydrophobes (section 3.3.1), les HS présentent des groupements aromatiques apolaires hydrophobes, favorisant leur interaction avec la surface des membranes de filtration. Ceci peut entraîner la constriction des pores et diminuer par conséquent le seuil de coupure de la membrane. De même, l'adsorption engendre des changements de propriétés de surface de la membrane [16], rendant plus hydrophobes les membranes organiques initialement rendues hydrophiles par les fabricants, pour limiter les interactions avec la matière organique [138]. Malgré le fait que ce soit souvent des mécanismes de colmatage minoritaires, ils ne peuvent être négligés car ils influencent la diminution du flux membranaire sur le long terme [113].

En règle générale, le dépôt de substances humiques n'est pas identifié comme un potentiel substrat pour la croissance du biofilm. En effet, ce sont des molécules qualifiées de récalcitrantes, notamment parce qu'elles peuvent former des complexes avec les enzymes extracellulaires et ainsi inhiber leur activité. Néanmoins, il a été montré que le biofilm peut également se développer sur un substrat contenant des substances humiques, ainsi leur adsorption initiale pourrait servir d'initiateur à la formation d'un biofilm sur la membrane [139]. De plus, en modifiant les propriétés de surface de membrane, l'adhésion des microorganismes formant le biofilm peut être favorisée [16].

- Le blocage de pores est quant à lui possible via la formation d'agglomérats de substances humiques sous forme de micelles très hydrophobes pouvant, dans la zone de faibles cisaillements, s'accumuler et contribuer au blocage de pores. Ce phénomène peut être accentué en cours de filtration s'il existe une membrane dynamique déjà formée par un gâteau de filtration et/ou un biofilm. Les pores de la membrane étant réduits, les aggro-

mérats de HS sont plus aptes à bloquer les pores [17].

3.3.3 Building blocks (BB)

C'est une fraction détectable et quantifiable par LC-OCD-OND-UVD et qui a été définie suite au développement de cette méthode analytique. Ces composés sont des produits de dégradation des substances humiques ayant un poids moléculaire entre 500 et 300Da [92]. Ils sont de nature hydrophobe et peuvent donc être impliqués dans des mécanismes d'adsorption sur et dans la membrane, du fait de leur taille et nature. Etant donné que ce sont des sous-produits de dégradation des substances humiques, ces molécules sont souvent regroupées avec les HS.

3.3.4 Les molécules à faible poids moléculaire (LMW)

La LC-OCD-OND-UVD permet de séparer ces molécules ayant un poids moléculaire inférieur à 350Da [92]. Deux familles distinctes sont généralement identifiées, (i) les substances acides à faible poids moléculaire qui sont des produits finaux de dégradation des molécules organiques ou des produits métaboliques bactériens de nature hydrophile (LMW-A) et (ii) les substances neutres qui sont des molécules faiblement hydrophobes telles que les alcools et acides aminés. Des études ayant analysé le bio-cake ont identifié les LMW comme composés majoritaires [140], [141]. Ainsi, les LMW peuvent se déposer et s'adsorber sur la surface membranaire provoquant le blocage de pores et favorisant le développement du bio-cake (en servant de substrat aux bactéries qui forment le biofilm). Néanmoins, dans la plupart des études sur le colmatage, les LMW contenus dans les SMP sont souvent peu retenues par la membrane et contribuent que très faiblement aux mécanismes de colmatage dans les Bàm du fait de leur faible taille et relative hydrophilicité. En effet, leur pourcentage de rétention est souvent faible avec des concentrations, avant et après la membrane, quasiment identiques [142].

L'ensemble de ces fractions de la DOM et de leurs propriétés spécifiques sont répertoriées dans la Table I.5 et un schéma récapitulatif est visible Figure I.14

Table I.5 – Description des différents composés contenus dans la DOM en terme de taille, de caractéristiques et de propriétés colmatantes

Fraction	Taille	Caractéristiques	Colmatage	Méthodes de détection	Références
Protéines issues des Biopolymères	> 10kDa	Molécules amphotères chargées négativement, aliphatiques pouvant se replier sur elles-mêmes. Pouvant être hydrophiles ou hydrophobes si elles comportent des AA à cycles aromatiques (Tyr, Trp, Phe)	Identifiées dans certaines études comme composés majoritairement responsables du colmatage du fait de leur taille supérieure aux autres biopolymères et leur adsorption sur la membrane	Lowry, Lowry modifié, HPLC-SEC, LC-OCD-OND, FTIR, 3DEEM, Pyr-CG/MS, ¹³ C NMR	[81], [109], [104], [62]
Polysaccharides issus des Biopolymères	> 10kDa	Molécules hydrophiles présentant un caractère neutre	Souvent considérés comme agents colmatants principaux car identifiés comme composés majoritaires des biopolymères et ayant des propriétés de gélification fortes	Dubois, Anthrone, HPLC-SEC, LC-OCD, FTIR, Pyr-CG/MS, ¹³ C NMR	[22], [23], [115], [16]
Substances humiques	1kDa	Molécules hydrophobes de petite taille pouvant s'agréger sous forme de micelles grâce à des forces hydrophobes ou des ponts hydrogène	Colmatage par adsorption entraînant la constriction des pores et/ou le changement de propriétés de surface de la membrane. Colmatage par blocage de pores dans le cas de la formation d'agrégats. Sont principalement associés à un colmatage irréversible problématique sur le long terme	UV ₂₅₄ , HPLC-SEC, LC-OCD, 3DEEM, Pyr-CG/MS, ¹³ C NMR	[131], [113], [132], [16]
Building blocks	500-300 Da	Produits de dégradation des substances humiques présentant les mêmes propriétés d'hydrophobicité que les HS+BB	Colmatage par adsorption entraînant la constriction des pores et/ou le changement de propriétés de surface de la membrane. Colmatage par blocage de pores dans le cas de la formation d'agrégats	UV ₂₅₄ , Lowry modifié, HPLC-SEC, LC-OCD, 3DEEM, Pyr-CG/MS, ¹³ C NMR	[92]
Molécules à faible poids moléculaire	< 350Da	Produits de dégradation finaux de produits organiques, alcools et acides aminés. Molécules hydrophiles ou faiblement hydrophobes	Du fait de leur taille et de leurs propriétés hydrophiles, très peu impliquées dans les mécanismes de colmatage	Lowry, Lowry modifié, Dubois, HPLC-SEC, LC-OCD, Pyr-CG/MS, ¹³ C NMR	[140], [92]

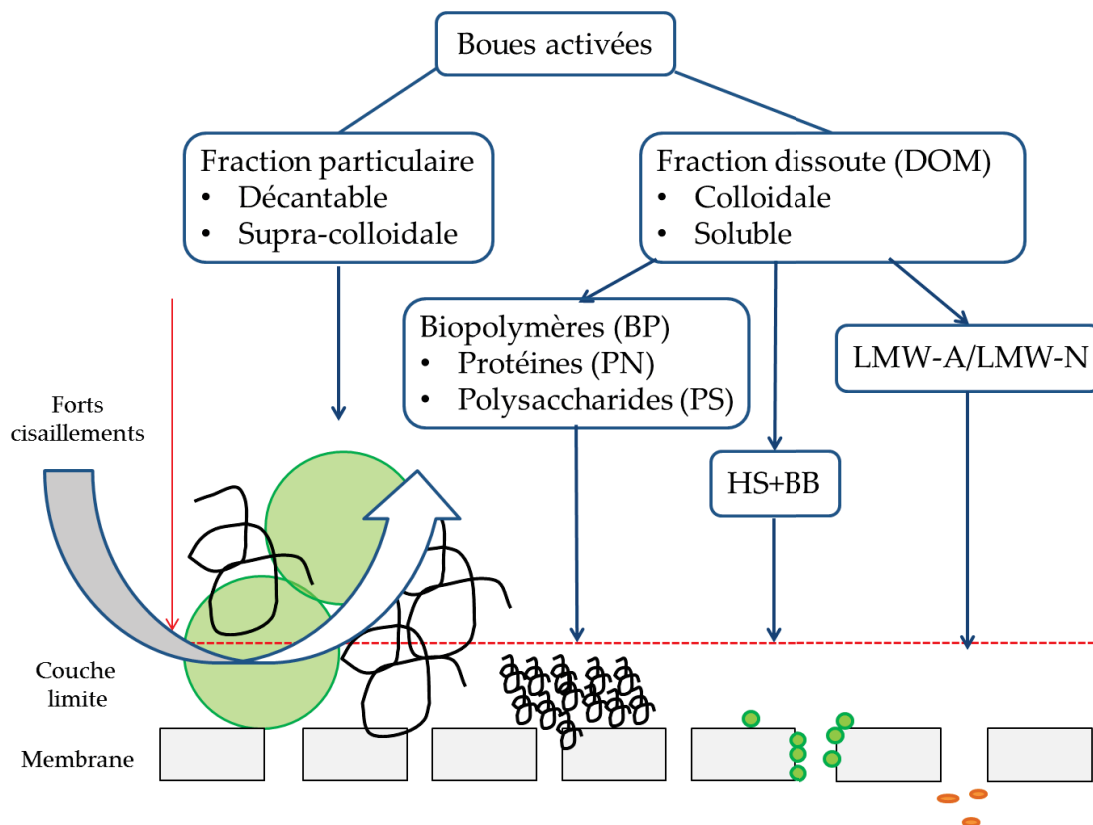


Figure I.14 – Schéma récapitulatif des différentes fractions des boues activées et leur impact sur la membrane

L'ensemble de ces observations concerne les différentes espèces décrites ci-dessus dans le cas où elles sont considérées séparément. Néanmoins, la DOM est un mélange complexe et des interactions entre composés peuvent également avoir lieu lors de la filtration, modifiant leur comportement vis-à-vis de la membrane [31]. En effet, il est reconnu que ce sont les interactions colmatant/membrane qui prédominent dans les premières phases de filtration. Par la suite, ce sont les interactions entre les espèces colmatantes en solution et celles déposées sur la membrane, ou dans la membrane, qui déterminent les mécanismes de colmatage [143], [144], [16]. Il est donc nécessaire d'étudier ces interactions pour comprendre plus en profondeur le colmatage membranaire.

3.4 Rôle des interactions entre les composés de la DOM dans les phénomènes de colmatage

Comme décrit par Meng *et al.* (2017) [16], la question du colmatage membranaire ne peut être traitée en ne considérant qu'un type de composés. Ainsi, des équipes de recherche ont tenté de mettre en évidence l'existence d'interactions entre les espèces de la DOM suivant

plusieurs types d'approches.

3.4.1 Mise en évidence par des tests de filtration de molécules modèles

Les tests de filtration réalisés avec des mélanges de molécules modèles est une approche classique pour identifier des mécanismes d'interaction entre deux types de composés. L'utilisation d'espèces modèles permet de simplifier l'interprétation des résultats et de proposer des modèles de colmatage. Plusieurs espèces modèles peuvent être utilisées. Leur choix se fait en fonction des observations déjà décrites dans la section 3.3. Le plus souvent ce sont des protéines et polysaccharides comme la BSA (Bovine Serum Albumin) ou l'alginate, respectivement, ayant un haut poids moléculaire. Pour les molécules à faible poids moléculaire, ce sont souvent des acides humiques aquatiques qui sont utilisés. Dans ce type d'étude, les espèces modèles sont filtrées séparément pour mettre en évidence la relation colmatant/membrane, étant donné qu'elle détermine les phénomènes de colmatage dans les premiers stades de la filtration [126]. Puis, c'est la relation colmatant-colmatant qui devient déterminante dans les mécanismes de colmatage [65]. Ainsi, deux ou plusieurs espèces modèles sont mélangées et filtrées pour comprendre l'effet de leur mélange sur la filtration membranaire. A partir de ces tests plusieurs réponses peuvent être observées (Figure I.15) :

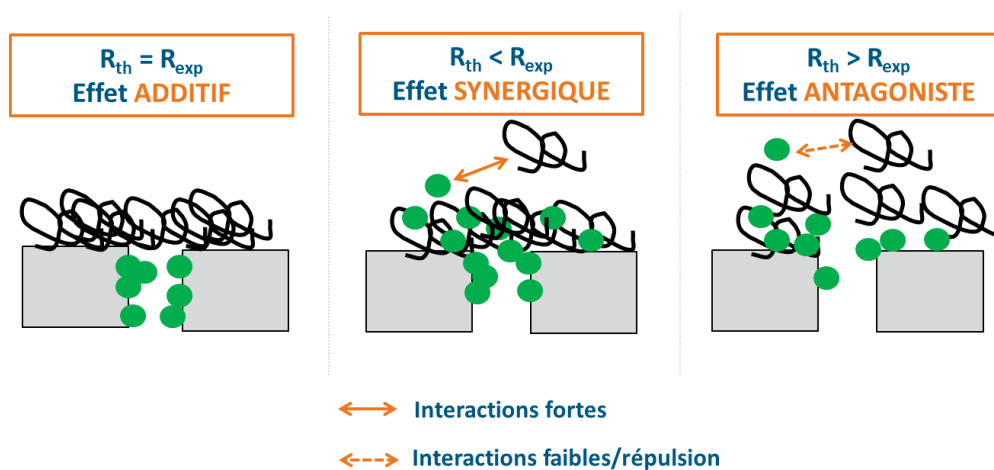


Figure I.15 – Schéma des cas de figures lors de la filtration de deux types de composés, avec R_{th} et R_{exp} les résistances théorique (RIS) et expérimentale

- **Effet additif** : la résistance membranaire observée est égale à la somme des résistances des composés obtenues séparément (RIS, Resistance In Series). Dans ce cas, les espèces n'interagissent pas ou peu entre elles.
- **Effet synergique** : la résistance membranaire est plus grande que celle attendue. Dans ce cas le mélange est plus colmatant que les espèces seules, du fait d'interactions entre

les composés engendrant la formation d'agrégats, amplifiant l'adhésion à la membrane et/ou diminuant la porosité du gâteau de filtration.

- **Effet antagoniste** : la résistance membranaire observée est plus faible que celle attendue, ainsi le mélange génère moins de colmatage. Ceci peut s'expliquer par des mécanismes de répulsion par exemple, ou encore la formation d'agrégats de taille inférieure à celle des pores, ayant moins d'affinité avec la membrane.

Lors de tests de filtration réalisés sur des mélanges, l'effet synergique entre les substances humiques et les différents types de biopolymères a plusieurs fois été mise en évidence. En mélangeant des substances humiques avec de la BSA ou de l'alginate, le gâteau de filtration formé est un mélange hétérogène de substances humiques et de biopolymères, dont la porosité est diminuée et l'adhésion à la membrane accrue [65]. La formation d'agrégats entre les substances humiques et les biopolymères a également été observée [145]. Ainsi, les interactions entre les espèces colmatantes sont un mécanisme prédominant dans le colmatage membranaire [146]. Ces études ont contribué à faire avancer la recherche sur le colmatage membranaire. Toutefois, les phénomènes observés avec des molécules modèles sont souvent simplifiés devant les phénomènes ayant réellement lieu dans les BÀM, du fait de la large distribution et diversité des composés contenus dans la DOM (section 3.3).

Pour comprendre plus en profondeur les mécanismes de colmatage, en prenant en compte les interactions entre molécules, il est nécessaire de travailler sur des fractions réelles de DOM issues du surnageant de boues activées. Meng *et al.* (2017) [16] ont mis en avant le fait que les interactions ont souvent lieu entre des biopolymères et des substances humiques comme décrit précédemment. Ce sont d'ailleurs les propriétés d'hydrophobicité des substances humiques qui favoriseraient ces interactions. Ces propriétés influencent grandement les interactions d'interface colmatant/colmatant et colmatant/membrane [81], [126], [62], [104]. Ainsi, des auteurs ont tenté de fractionner la DOM du surnageant des boues activées en familles de molécules plus ou moins hydrophobes, pour mettre en évidence ces phénomènes.

3.4.2 Mise en évidence par fractionnement selon les propriétés d'hydrophobicité

Grâce à l'utilisation de résines XAD disposées en tandem, il est possible de séparer les composés organiques, initialement contenus dans un échantillon contenant de la DOM, se-

lon leurs propriétés d'hydrophobicité [147], [148]. Cette technique permet d'isoler les trois fractions suivantes :

- **HPO** : fraction hydrophobe retenue par la résine XAD-8, composée principalement de substances humiques (HS) et de protéines hydrophobes.
- **TPI** : fraction transphilique retenue par la résine XAD-4, composée de molécules à caractère intermédiaire d'hydrophobicité ou faiblement hydrophobes, peu décrits en terme de nature dans la littérature.
- **HPI** : fraction hydrophile, composée de molécules retenues par aucune des deux résines, telles que des protéines et des polysaccharides, mais aussi des molécules hydrophiles à faible poids moléculaire.

Néanmoins, certaines études évoquent l'accumulation de sels dans la fraction HPI pouvant co-précipiter avec les composés organiques [148]. Ainsi, avant le fractionnement par résines XAD il est possible de procéder à une dialyse, permettant de collecter les biopolymères hydrophiles, aussi appelés colloïdes [53].

Xiao *et al.* (2014) [126] ont référencé, dans une revue détaillée disponible dans les annexes de l'article, les résultats d'études de colmatage ayant procédé à un fractionnement par résines XAD seulement. Cette étude répertorie les travaux où le surnageant de nombreux Bàm à l'échelle pilote a été fractionné et filtré sur différents types de membranes. Dans la plupart des études, c'est la fraction HPI qui est responsable du colmatage, tandis qu'un nombre limité d'études ont quant à elles identifié la fraction HPO. Les mêmes tendances ont été observées pour les études à l'échelle des stations d'épuration [149], [113], [81]. Néanmoins, ces dernières sont moins courantes qu'à l'échelle pilote, malgré l'intérêt pour l'étude du colmatage.

Contrairement à l'utilisation de molécules modèles, chacune de ces fractions est un mélange de composés aux propriétés d'hydrophobicité similaires. Par exemple, la filtration de la fraction HPO seule permet d'estimer l'impact des interactions pouvant exister entre les molécules hydrophobes contenues dans cette fraction. Néanmoins, aucune des études ayant procédé au fractionnement du surnageant de Bàm n'a filtré des mélanges de différentes fractions pour mettre en évidence les éventuels effets synergiques, additifs ou antagonistes évoqués précédemment, pouvant avoir lieu lors de la filtration.

Deux études ont tout de même réalisé la filtration du mélange de fractions de DOM provenant d'effluents secondaires, matrice relativement proche du surnageant de Bàm [143], [53]. Dans les deux cas, la fraction hydrophile contenant les biopolymères était la fraction générant le plus de colmatage, comme évoqué précédemment et dans la section 3.3.1. Ceci est principalement lié à leur taille provoquant le blocage de pore suivi de la formation d'un gâteau de filtration [53]. Ceci suggère que le contrôle de cette fraction pourrait être une stratégie à adopter pour le contrôle du colmatage. Comme lors du mélange de molécules modèles, le mélange des fractions amplifie les phénomènes de colmatage. Ainsi, lorsque les biopolymères hydrophiles sont filtrés en présence de molécules hydrophobes, de fortes interactions se mettent en place, déterminant l'effet du colmatage net. Une fois encore, les molécules hydrophobes, telles que les substances humiques, jouent un rôle crucial dans les phénomènes de colmatage. En effet, malgré leur faible poids moléculaire, il peuvent s'incorporer à des agrégats, ou dans le gâteau de filtration, par des forces hydrophobes ou électrostatiques [16]. L'étude des interactions est donc primordiale pour comprendre les mécanismes de colmatage et quantifier l'impact global de la DOM sur le colmatage.

Au-delà de la compréhension des mécanismes de colmatage et d'interactions, il est nécessaire d'identifier les conditions dans lesquelles les fractions de DOM sont préférentiellement présentes dans le surnageant des boues activées de Bàm. En effet, comme évoqué dans le paragraphe précédent, limiter la présence de biopolymères par exemple, pourrait permettre de contrôler le colmatage en amont. Or, la DOM serait principalement composée de SMP, dont la composition et la constitution dépendent principalement de l'état physiologique des bactéries qui les sécrètent. Il est par conséquent important d'identifier les conditions opératoires qui déterminent l'état physiologique des bactéries [150].

4 Occurrence de la DOM

La DOM est principalement composée de SMP, qui sont des produits de l'activité bactérienne [151]. Celle-ci varie dynamiquement au cours du traitement biologique et en fonction des conditions opératoires appliquées au procédé [62]. Différents facteurs sont évoqués dans la littérature : qualité de l'effluent d'entrée, charge organique et azotée en entrée, temps de rétention solide (SRT, Sludge Retention Time), temps de rétention hydraulique (HRT, Hydraulic Retention Time) ou encore variations saisonnières de température. Néanmoins, les

résultats des études sont souvent inconsistants et contradictoires du fait de la diversité des installations et de leur opération. Il est donc nécessaire de mieux comprendre l'impact de ces facteurs sur la dynamique de production des SMP, et par conséquent sur la DOM [152], [63], [62].

4.1 Composition de l'effluent d'entrée et charge organique

Il est généralement reconnu qu'un faible pourcentage de la DOM de l'intrant constitue la DOM totale contenue dans le surnageant des boues activées [79], [96]. En effet, celle-ci représenterait seulement 2% de la DOM totale [153], [154]. Ce pourcentage peut augmenter en cas de perturbation du procédé, comme une limitation du substrat, la présence de composés toxiques ou encore un changement brutal de la composition d'entrée. Dans ce cas, près de 17% de la DOM totale pourrait provenir de l'intrant [29]. Néanmoins, la distinction entre la DOM de l'intrant et les SMP, lors de la mesure de la DOM dans le surnageant de boues, n'est pas évidente à l'échelle d'une station d'épuration.

Malgré un faible impact sur la composition globale, la DOM de l'intrant détermine en partie la composition de la DOM totale. En effet, Shen *et al.* (2012) [113] ont remarqué une différence de l'empreinte fluorescente des surnageants de Bàm traitant des effluents industriels et ceux traitant des effluents domestiques. La matière organique dissoute apportée par l'effluent à traiter est utilisée comme substrat par la biomasse active, affectant par conséquent la quantité et le type de SMP produits [96]. Ceci est également dû à la mise en place d'une biomasse spécifique et adaptée à chaque type d'effluent.

Parmi les critères déterminants concernant l'impact de l'effluent sur la quantité et la qualité des composés sécrétés par les microorganismes, le ratio C/N (Carbone/Azote) est primordial. Il influence les propriétés physiologiques des microorganismes, la composition de la biomasse, ainsi que la structure et la diversité des communautés microbiennes dans le Bàm [155], [156], [157]. Lorsque le ratio C/N en entrée augmente, moins d'azote serait disponible, ainsi moins de protéines sont produites. Cependant, les conclusions trouvées dans la littérature sur l'effet du ratio C/N sur la production et l'élimination des SMP sont divergentes. En effet, certains auteurs ont noté qu'une augmentation du ratio C/N est associée à une diminution des SMP [157], alors que d'autres ont noté une augmentation [155]. En effet, la présence de NH_4^+ favoriserait l'extraction des EPS liées à la surface des bactéries pour former des SMP. La modification de ce ratio entraîne également une pression de sélection entre

les espèces hétérotrophes et les espèces autotrophes, pouvant engendrer une différence de SMP secrétées et de vitesses de sécrétion [158], [159].

La charge organique (OLR, Organique Loading Rate) est également un facteur impactant indirectement la production de SMP, du fait de son influence sur la croissance bactérienne. Ceci est vérifié en particulier pendant la période d'acclimatation où de fortes variations de charges peuvent avoir lieu [114]. Ainsi, les transitions entre respiration exogène et respiration endogène sont plus fréquentes. Respirations exogène et endogène sont définies par des ratios substrat sur microorganismes (F/M, Food to Microorganisms) élevé et faible, respectivement. Lorsque l'OLR augmente (respiration exogène), des quantités de biopolymères plus importantes ont été mesurées. Ceci est dû au fait qu'ils sont moins facilement biodégradables ou utilisés comme substrat secondaire par les bactéries du fait du F/M important [160]. Au contraire, quand les bactéries sont en respiration endogène (comme c'est souvent le cas pour le traitement des eaux usées), la concentration en substances humiques est plus importante [81].

4.2 SRT et HRT

Parmi les paramètres opératoires évalués dans la littérature scientifique, le SRT (temps de rétention solide) est celui qui aurait le plus d'impact sur l'activité des microorganismes [114]. En effet, un plus grand SRT permet la mise en place d'une plus grande diversité bactérienne, en favorisant en particulier la croissance de la biomasse autotrophe ayant un taux de croissance faible [31], [161], [32]. Ainsi, plus le SRT est long, plus il y aura formation et accumulation de composés non ou lentement biodégradables, via l'accumulation d'inertes [162], [163]. Néanmoins, les résultats des études sur l'impact du SRT sur les SMP peuvent différer d'une étude à l'autre. Yu *et al.* (2015) [96] ont ainsi observé la diminution de la concentration en protéines et l'augmentation de celle des substances humiques avec l'augmentation du SRT, correspondant à l'accumulation de molécules lentement biodégradables évoquée précédemment. Ce phénomène correspond à la décomposition des biopolymères de la DOM du surnageant de Bàm [164]. Cependant, d'autres études ont observé qu'un faible SRT est associé à une plus grande concentration en SMP (estimés via la mesure des protéines et des polysaccharides) et généralement plus de colmatage [27].

La composition des SMP dépend également du temps de séjour des composés solubles provenant de l'intrant et des SMP produites, c'est-à-dire du HRT. Ainsi, la taille et la diver-

sité des composés sécrétés par les bactéries sont impactées par ce paramètre. En effet Kuna-cheva *et al.* (2017) [29] ont identifié 70 composés présents pour un HRT de 4h et 44 présents pour un HRT de 8h. Pour de trop faibles HRT, certains composés facilement biodégradables n'ont pas le temps d'être entièrement métabolisés. Ainsi, en augmentant le temps de séjour hydraulique, il est possible de favoriser l'élimination de certains composés présents dans la phase soluble, ce qui pourrait avoir un effet sur les dynamiques de colmatage.

4.3 Température

La température est un facteur non maîtrisé ayant un impact important sur la croissance, le métabolisme et la structure des communautés bactériennes [151], [165]. La température idéale pour l'activité bactérienne dans les procédés boues activées se situe entre 25 et 35°C, tandis que pour des températures inférieures à 5°C, les bactéries nitrifiantes ne sont plus actives [166]. Globalement, plus la température est faible, plus le métabolisme et la croissance bactérienne sont ralentis [167]. C'est un paramètre qui influence indirectement la production de SMP, et par conséquent de la DOM [59]. Plusieurs études ont cependant identifié une baisse de perméabilité notable pendant la période hivernale [166]. Ainsi, les faibles températures entraînent la production de métabolites bactériens, sans doute en réaction au stress thermique [161], [81]. Néanmoins, cette observation n'est pas généralisée. D'autres auteurs ont observés quant à eux une augmentation des SMP avec l'augmentation de la température, du fait d'une activité bactérienne plus intense, combinée à des cinétiques de dégradation du substrat plus grandes [159].

Au-delà de l'impact des hautes ou basses températures, les chocs de températures engendrent également la production de SMP [153], [152].

Ainsi en fonction des études, la sécrétion et la composition des SMP peut être variée. La Table I.6 résume la diversité de résultats trouvés dans la littérature sur les différents composés des SMP, ainsi que le contexte de ces études.

Table I.6 – Tableau descriptif de la diversité de la composition de la DOM et des conditions opératoires étudiées

Type de BâM	Concentration SMP	Concentration PS	Concentration PN	Concentration HS	Conditions opératoires	Méthodes de mesure	Référence
STEP	-	6-23mg/L/L	-	-	-	Méthode de l'acide sulfurique phénol pour les PS	Kimura <i>et al.</i> 2015 [127]
STEP	-	5-10mg/L	5-15mg/L	10-25mg/L	Variations saisonnières	Méthodes de Dubois et Lowry modifiée pour les PS et PN/HS, respectivement	Sun <i>et al.</i> 2014 [81]
STEP	22mgC/L	16-18mg/L	1-5mg/L	7-10mg/L	Hydrophobicité des fractions	Méthodes de Dubois et Lowry modifiée pour les PS et PN/HS, respectivement	Xiao <i>et al.</i> 2014 [126]
STEP	-	3-18mgC/L	< 5mgC/L	2-10mgC/L	Etude de 10 BâM	Méthodes de Dubois et Lowry modifiée pour les PS et PN/HS, respectivement	Shen <i>et al.</i> 2012 [113]
Echelle pilote	-	0,3-1,5mgC/gMES (BP)		1,5-5,6mgC/gMES (Building blocks)	Différentes charges organiques	SEC-OCD pour la mesure des biopolymères et des building blocks	Maqbool <i>et al.</i> 2017 [114]
Echelle pilote	-	9-16mg/L	2,0-2,9mg/L	-	SRT=30j	Méthodes de l'acide sulfurique phénol et de Bradford pour les PS et PN respectivement	Juang <i>et al.</i> 2013 [80]
Echelle pilote	9-14mgC/L	5-12mg/L	1-3mg/L	-	Différents ratios C/N	COT, méthodes d'Anthrone et de Badford pour les PMS, PS et PN/HS, respectivement	Feng <i>et al.</i> 2012 [155]
Echelle pilote	8-15mgC/L	7-12mg/L	5-28mg/L	41-77mg/L	Variations des SRT	Bicinchoninic Micro Acid protein assay (PN), Anthrone et Lowry modifiée pour les PS et PN/HS, respectivement	Yao <i>et al.</i> 2011 [168]
Echelle pilote	~ 13mgC/L	~ 4mg/L	~ 1mg/L	-	Hydrophobicité des fractions	COT, méthodes de Dubois et Lowry modifiée pour les PS et PN/HS, respectivement	Shen <i>et al.</i> 2010 [169]

Cette diversité de résultats s'explique par :

- La difficulté de réaliser des comparaisons entre les stations traitant des effluents urbains et les essais réalisés à l'échelle laboratoire avec des effluents synthétiques ou réels [2], [113].
- Les techniques analytiques et d'extraction employées. En effet, les méthodes colorimétriques de mesure des polysaccharides et protéines sont sujet à controverse. C'est d'ailleurs la cause principale dans la difficulté de compréhension des mécanismes de colmatage, car les résultats sont souvent non comparables (Table I.6). Ainsi, les moyens pour quantifier et contrôler la production de SMP doivent être uniformisés. [63].

5 Conclusion de l'état de l'art

Du fait de la nécessité de mettre en place des systèmes de traitement avancés pour l'épuration et la possible réutilisation des eaux usées urbaines, les Bàm sont une technologie clé car ils permettent une désinfection poussée des effluents, une réduction de l'emprise au sol des systèmes de traitement et une souplesse de mise en œuvre. Néanmoins, les phénomènes de colmatage sont une limite majeure au développement de la technologie Bàm, du fait des coûts élevés associés aux stratégies de limitation ou de correction de ce phénomène. Il est donc nécessaire de comprendre les mécanismes liés au colmatage, ainsi que d'identifier les composés impliqués [132], [29]. Il sera ainsi possible de contrôler le colmatage membranaire et d'optimiser la gestion des Bàm [162].

Certains composés de la DOM ont été identifiés comme principaux responsables du colmatage dans un grand nombre de travaux. Ce sont ainsi des composés principalement issus de l'activité bactérienne étant donné que les SMP constituent la majeure partie de la DOM du surnageant de Bàm. Comme développé précédemment, les SMP sont le dénominateur commun entre les différents paramètres de fonctionnement du Bàm : intrant, métabolisme bactérien, paramètres opératoires et colmatage membranaire. C'est donc un indicateur particulièrement important pour la compréhension des phénomènes de colmatage dans un Bàm et pour leur maîtrise (Figure I.16).

L'établissement d'un lien entre la production de SMP et certains paramètres opératoires pourrait également permettre d'anticiper des épisodes de colmatage ou de les contrôler. Néanmoins, étant donné la complexité de la DOM, la maîtrise complète de ces phénomènes est difficile. En effet, malgré le grand nombre d'études réalisées sur la thématique, peu de

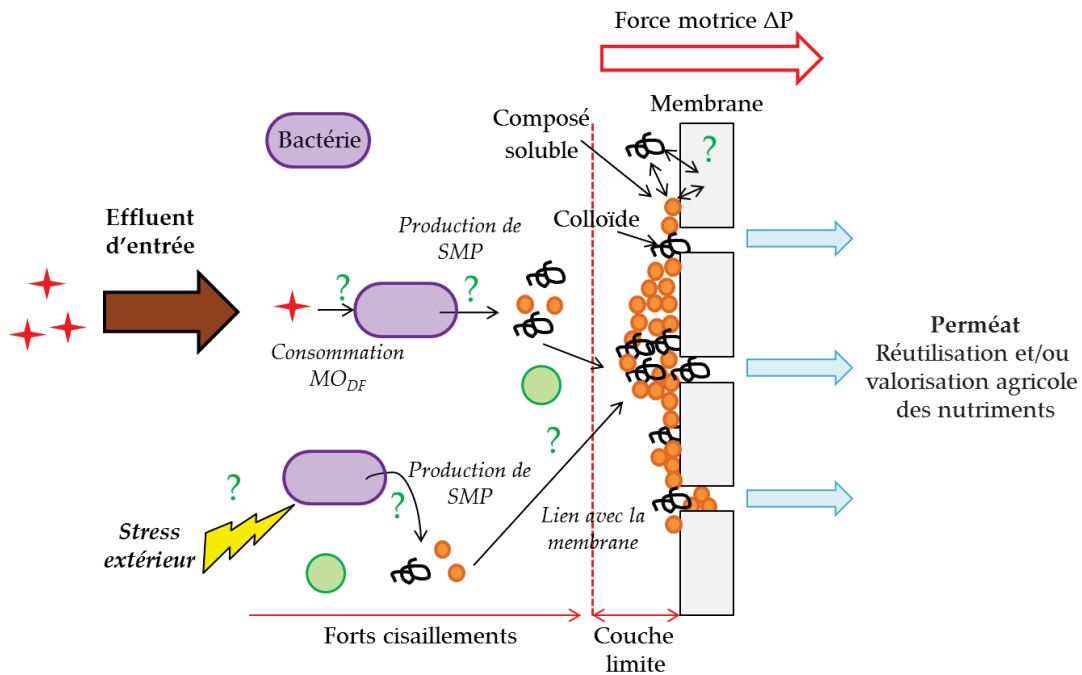


Figure I.16 – Schéma descriptif des verrous scientifiques liés à la compréhension et la maîtrise des mécanismes de colmatage

conclusions communes ont été dressées. Ces études ont cependant permis d'identifier les principaux composés présents dans la DOM et les mécanismes auxquels ils sont majoritairement associés. Ainsi, les biopolymères (protéines et polysaccharides) sont les majeurs responsables du colmatage, formant un gâteau de filtration, tandis que les substances humiques, de nature hydrophobes, s'adsorbent sur la membrane contribuant au colmatage irréversible. Les interactions entre ces deux types de composés seraient également déterminantes lors de la filtration membranaire. Certaines études ont réussi à mettre en évidence des corrélations entre les SMP, ou certains de leurs composés, et des paramètres liés au colmatage membranaire (résistance membranaire, perméabilité, etc) [170], [171], [172]. Toutefois, elles n'ont pu être extrapolées à d'autres systèmes et ne peuvent pas par conséquent servir de références. Il est donc nécessaire de faire une investigation sur la DOM propre à chaque système.

Pour cela, il est primordial de développer des méthodes d'identification et de quantification rapide de la DOM, qui permettraient un suivi en ligne. A ce jour, les méthodes quantitatives sont souvent peu sélectives ou associées à des manutentions inadéquates avec un suivi en direct (section 3.2). Le manque de techniques analytiques de la DOM pour l'analyse en directe rend difficile l'anticipation et le contrôle potentiel du colmatage membranaire par

les opérateurs.

Ainsi, ces travaux se proposent d'étudier l'intérêt du suivi avancé de la DOM pour le contrôle des mécanismes de colmatage membranaire au sein des Bàm, que ce soit à l'échelle pilote ou à l'échelle d'une station d'épuration. Pour cela, un suivi de la DOM a été réalisé en utilisant principalement la 3DEEM. En effet, cette technique a été identifiée comme étant adaptée à cette problématique, car elle permet l'acquisition rapide des résultats, n'est pas destructive et ne nécessite pas de préparation complexe des échantillons [100]. Ces critères la rendent particulièrement intéressante pour le suivi en ligne de la DOM dans les Bàm à l'échelle industrielle, dans le cas où une technique simple d'extraction et d'exploitation des données puisse être développée.

Chapitre II

Matériel et Méthodes

1 Outils analytiques classiques des boues de station d'épuration

1.1 Mesure des paramètres physico-chimiques

Les paramètres conductivité et température ont été mesurés *in-situ* à l'aide d'un conductimètre (VWR, LF 330/SET). Le pH a également été mesuré *in-situ* à l'aide d'un pHmètre (VWR, pH1000H) étalonné à chaque nouvelle mesure.

1.2 DCO

La DCO (COD en anglais) correspond à la demande chimique en oxygène. Elle représente la consommation en dioxygène par des oxydants chimiques forts pour oxyder les substances organiques et minérales de l'eau. C'est un indicateur global de la pollution dans une eau usée, qui est utilisé en station d'épuration pour contrôler la qualité de l'eau en entrée et en sortie suivant la norme NF T90-101 (Février 2001).

Les mesures ont été réalisées avec des kits HachLange en fonction des concentrations de travail (DCO LCI 400, 0-1000mg/L O₂ et DCO LCI 500, 0-150mg/L O₂).

Les analyses de DCO peuvent être sujettes à des interférences liées notamment à la présence de Cl⁻ (> 1500mg/L) et de NO₂⁻. Par exemple dans les urines, la concentration moyenne en Cl⁻ est de 4000mg/L, ce qui est problématique pour la mesure de la DCO. Il est donc important de diluer les échantillons avant analyse. Dans le cadre des travaux de thèse, les échantillons d'urine ont été dilués 100 fois. En présence d'ions NO₂⁻, il est nécessaire de corriger la valeur de DCO obtenue en utilisant l'Eq.II.1, où 1,1 (mgO₂) est la demande d'oxygène théorique par mg de N-NO₂⁻ [173].

$$DCO_{\text{corrigée}} = DCO_{\text{mesurée}} - 1,1 \times N - NO_2^- \quad (\text{II.1})$$

Avec :

$DCO_{\text{corrigée}}$ = Valeur de DCO obtenue après correction des interférences (mgO₂/L)

$DCO_{\text{mesurée}}$ = Valeur de DCO obtenue expérimentalement (mgO₂/L)

$N - NO_2^-$ = Concentration en azote liée aux ions NO₂⁻ dans l'échantillon (mg/L)

1.3 Azote Total (TN : Total Nitrogen)

La mesure de l'azote total (TN) permet de mesurer la totalité des espèces azotées présentes en solution. En effet, les eaux usées contiennent principalement de l'azote sous la forme de NH_4^+ issue majoritairement de l'hydrolyse de l'urée.

Pour la mesure du TN, des kits HachLange (TN LCK 338, 20 – 100mg/L TN) ont été utilisés.

1.4 COT et COD

Le carbone organique total (COT, TOC en anglais) correspond au carbone particulaire et dissous que l'on qualifie respectivement de COP et COD (DOC en anglais). Il a été mesuré grâce à un COTmètre (spectromètre TOC-VCSN Shimadzu). Après aspiration via un vial, l'échantillon est acidifié à un pH inférieur à 2, avec de l'acide chlorhydrique (2mol/L), pour que le carbone inorganique total soit sous forme de CO_2 . De l' O_2 est ensuite injecté dans l'échantillon pour éliminer par stripping le CO_2 formé lors de l'acidification. Ensuite, l'échantillon est injecté dans un four à 680°C, contenant un catalyseur. Le carbone organique est alors oxydé et libéré sous forme de CO_2 . Un gaz vecteur entraîne le CO_2 le long d'un circuit permettant l'élimination des halogènes et de l'eau par refroidissement. En sortie, un détecteur infrarouge mesure la concentration en CO_2 résultante qui est convertie, via une courbe de calibration, en une concentration massique en carbone organique de l'échantillon.

1.5 Absorbance UV_{254} et SUVA_{254}

Pour caractériser la nature des composés organiques présents en solution, il est possible de faire une mesure d'absorbance à 254nm (UV_{254}). Ceci permet de calculer le SUVA_{254} en divisant la valeur de l' UV_{254} par la valeur en COT de l'échantillon. En effet, Weishaar *et al.* (2003) [85] ont montré que cette indice était corrélé positivement avec le pourcentage d'aromaticité de l'échantillon. Ainsi, plus un échantillon a un SUVA_{254} élevé, plus il contient des molécules de type acides humiques ou protéines aromatiques, et inversement (Table I.2).

1.6 MES et MVS

Par définition, les MES sont l'ensemble de matières solides retenues sur un filtre en fibre de verre selon la norme NF EN 872 (Juin 2005). C'est également un indicateur global utilisé

en station d'épuration pour contrôler la qualité de l'eau en entrée et en sortie.

Dans cette étude, leur mesure consistait en une filtration d'un volume fixé de boues actives (100mL pour La Grande-Motte et 30mL pour le pilote Bàm), sur un filtre en fibre de verre de 1,2µm (Whatman® glass microfiber filters, GF/C) de masse connue. Après filtration, les filtres étaient passés à l'étuve à 105°C pour les sécher. Une fois secs, ils étaient pesés (obtention de m_1). L'Eq. II.2 était ensuite utilisée pour déterminer la concentration en MES dans l'échantillon.

$$MES = \frac{m_1 - m_{\text{filtre}}}{V_{\text{échantillon}}} \quad (\text{II.2})$$

Avec :

MES = Concentration en matières en suspension (g/L)

m_1 = Masse du filtre après filtration et passage à l'étuve (g)

m_{filtre} = Masse du filtre neuf (g)

$V_{\text{échantillon}}$ = Volume d'échantillon filtré pour la mesure (L)

Les MVS (Matières Volatiles en Suspension, MLVSS en anglais) sont mesurées à la suite de la détermination des MES, en mettant les filtres au four à 550°C pendant 2 heures. La fraction des MVS correspond à la fraction calcinée pendant l'opération, car seules les matières minérales restent déposées du filtre après calcination. L'Eq. II.3, a été utilisée pour calculer la concentration en MVS dans un échantillon.

$$MVS = \frac{m_1 - m_2}{V_{\text{échantillon}}} \quad (\text{II.3})$$

Avec :

MVS = concentration en matières volatiles en suspension (g/L)

m_1 = Masse du filtre après filtration et passage à l'étuve (g)

m_2 = Masse du filtre après filtration, passage à l'étuve et au four (g)

$V_{\text{échantillon}}$ = Volume d'échantillon filtré pour la mesure (L)

Les MVS sont usuellement utilisées comme indicateur de la biomasse active [174].

1.7 Chromatographie ionique

Les cations (Na^{2+} , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} et Ca^{2+}), ainsi que les anions (Cl^- , NO_2^- , NO_3^- , SO_4^{2-} et PO_4^{2-}), ont été quantifiés par chromatographie ionique. Dans le cas des anions, un système Dionex ICS-1000 connecté à une colonne AS19 (4mm x 250nm) a été utilisé. Pour la séparation, l'éluent (KOH) était injecté à une concentration de 10mM pendant 10min, puis un gradient de concentration était appliqué pendant 20min (de 10mM à 45mM). Par la suite, la concentration de l'éluent était à nouveau fixée à 10mM pendant 10min. Pour les cations, un système Dionex ICS-900 combiné à une colonne CS12A a été utilisé. Dans ce cas l'éluent était de l'acide méthylsulfonique à 20mM. Que ce soit pour la séparation des cations ou des anions, les colonnes étaient contrôlées thermiquement à 30°C et un détecteur de conductivité DS6 était utilisé pour mesurer la concentration des ions, après une calibration préalable.

Pour réaliser des bilans de matière sur l'azote, il a été nécessaire de calculer la concentration en azote lié aux ions NH_4^{4+} , en utilisant l' Eq. II.4.

$$N - \text{NH}_4^+ = \frac{M(N)}{M(\text{NH}_4^+)} \times \text{NH}_4^+ = \frac{14}{18} \times \text{NH}_4^+ = 0,78 \times \text{NH}_4^+ \quad (\text{II.4})$$

Avec :

$N - \text{NH}_4^+$ = Concentration en azote lié aux ions NH_4^+ (mgN/L)

$M(N)$ = masse molaire de l'azote (g/mol)

$M(\text{NH}_4^+)$ = Masse molaire de NH_4^+ (g/mol)

NH_4^+ = Concentration en NH_4^+ mesurée par chromatographie ionique (mg/L)

Le même principe a été appliqué pour calculer l'azote lié aux ions NO_3^- et NO_2^- , ainsi que pour le phosphore lié aux ions PO_4^{2-} . Le détail est calculs est disponible en annexe ([Annexe A](#))

Ces indices globaux sont utilisés pour une caractérisation générale des boues. Cependant si l'on veut s'intéresser plus précisément à la matière organique, il est nécessaire d'utiliser des méthodes de caractérisation de la DOM qui seront décrites par la suite (section 5).

2 Sujets d'études

2.1 La station d'épuration de la Grande-Motte

2.1.1 Caractéristiques

La station d'épuration de La Grande-Motte (LGM), qui consistait en un traitement de type boues activées conventionnel, a été réhabilitée en BâM en juin 2013. Le but de la réhabilitation consistait à assurer une très bonne qualité de l'eau en rejet pour respecter les normes de "Zone sensible" du bassin de l'Etang de l'Or (Agglomération de Montpellier) et permettre une possible réutilisation des eaux usées traitées pour irriguer le golf à proximité. Elle présente une capacité maximale de 65 000 équivalents habitants (EH) et a été conçue par Stereau (filiale ingénierie de la SAUR).

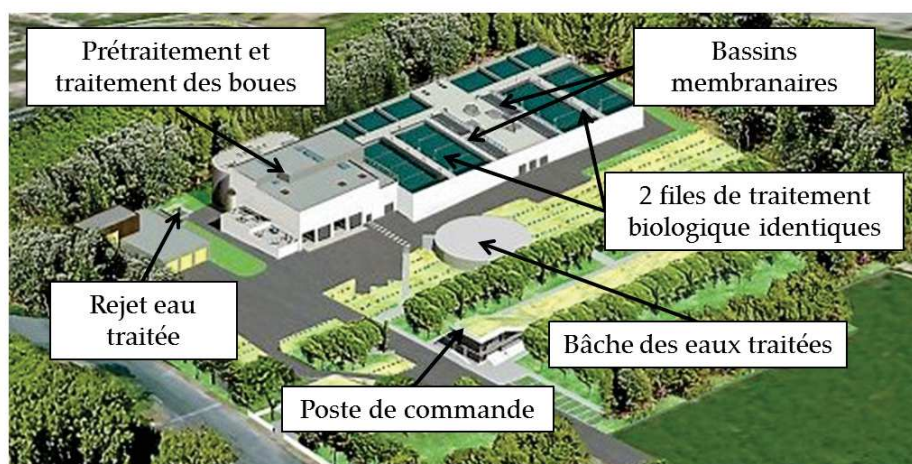


Figure II.1 – Schéma descriptif de la station d'épuration de la Grande-Motte

Pour respecter les normes de rejet de "Zone sensible", un traitement de l'azote par nitrification/dénitrification est réalisé grâce à des passages successifs dans des zones anaérobie, anoxie et enfin dans un bassin aéré. Ainsi, les normes de rejets imposées par l'arrêté du 22 juin 2007 (Ministère de l'écologie, du développement et de l'aménagement durables, 2007), sont largement respectées (Table II.1).

La station est équipée de membranes planes immergées de type Kubota Submerged Membrane Unit® (SMU) (KUBOTA, Japan), d'une surface totale de 16 240m² et ayant une taille de pores moyenne de 0,2µm, permettant une désinfection physique poussée. Les membranes ont été réparties dans quatre bassins membranaires (4060m² par bassin), fonctionnant tout au long de l'année et nommés R1, R2, R3 et R4, dans le synopsis de la station d'épura-

Table II.1 – Performances moyennes de la station de La Grande-Motte en 2014 (Source : Stereau, Notice d’exploitation LGM)

Paramètre	Concentration en entrée (mg/L)	Concentration en sortie (mg/L)	Norme de rejet (mg/L)	Rendement (%)
DBO ₅	300	1,5	<25	99,5
DCO	778	30,7	<125	96,1
MES	385	3,0	<35	99,2
Azote Global	79,9	4,9	<10	93,9
N-NH ₄	60,5	0,7	<3	98,8
Phosphore total	10,5	0,3	<1	97,1

tion.

Du fait de sa situation géographique, la STEP de La Grande-Motte présente un fonctionnement particulier aux villes de tourisme saisonnier. Ainsi, la population est multipliée par 5 en été, ce qui se répercute directement sur le volume d’eaux usées à traiter en station. Le débit entrant dans la STEP peut varier de 2500 m³/j à 5000 m³/j en moyenne selon la saison. Ainsi, trois périodes majeures peuvent être identifiées à LGM :

- **Saison basse (LS, Low Season)** : de Septembre à Mai
- **Saison haute (HS, High Season)** : de Mai à Septembre
- **Intersaison (TR, TRansitory)** : transition entre HS/LS et LS/HS

Pour un meilleur contrôle du procédé du fait de la saisonnalité, deux files ont été mises en place de façon à contrôler la montée en débit l’été et limiter l’impact de la faible charge en hiver (Figure II.1). Les caractéristiques des bassins et de la station sont décrites dans la Table II.2.

Table II.2 – Volumes associés à chaque bassin

Bassins	Volume pour une ligne (m ³)	Volume pour deux lignes (m ³)
Anaérobie	600	1200
Anoxie	1000	2000
Aérobie	2850	5700
Membranes	330 (x4)	330 (x4)
Total	5770	10220

Ainsi, la station d’épuration de La Grande-Motte est un cas d’étude particulièrement intéressant pour l’analyse de l’impact des variations des paramètres opératoires (charges

entrantes, SRT, HRT), mais aussi des variations saisonnières de température sur la DOM et, par conséquent, sur le colmatage membranaire.

2.1.2 Campagnes de prélèvement et calculs

Le BàM de La Grande-Motte a été suivi pendant 488 jours (Mars 2015 à Juillet 2016). Seul le réacteur membranaire R4 a été étudié. Pendant cette période plusieurs campagnes de prélèvements ont été réalisées :

- **Campagnes de prélèvement de la DOM** : Deux campagnes majeures ont eu lieu entre Mai et Juin 2015 (27 Mai 2015 et 09 Juin 2016), avant et après ouverture de la seconde ligne, pour procéder au fractionnement de la DOM du surnageant de boues activées. Le protocole est décrit section II.5 et les résultats sont présentés dans le Chapitre III.
- **Campagnes de suivi régulier** : Entre Avril et Juillet 2016, un total de 24 prélèvements ont été effectués. Lors de chaque prélèvement, des boues activées et du perméat étaient collectés au niveau du bassin membranaire R4 et de sa sortie. La température était mesurée *in-situ*, puis les échantillons étaient placés dans une glacière à 4°C. Au laboratoire, 1L de boues était placé sous aération en perspective des mesures respirométriques pour le suivi de la biomasse active, tandis que concentrations en MES/MVS étaient déterminées suivant la procédure décrite section 1.6. Ensuite, les mesures de SUVA₂₅₄ et de 3DEEM étaient réalisées sur le surnageant des boues activées et le perméat. Les échantillons collectés entre Mai et Novembre 2015, ont également fait l'objet d'une analyse poussée de la DOM ; quantification des protéines et des polysaccharides et LC-OCD-OND-UVD. Ces dernières analyses ont été réalisées par Jacqueline Traber à l'Eawag (Suisse). Les protocoles de suivi de la DOM, de la biomasse active et des analyses statistiques sont décrits sections 5, 6 et 7. Les résultats seront présentés dans les Chapitres IV et V.

Le suivi du BàM de La Grande-Motte se plaçait dans le cadre du projet EnerMod (Agence de l'Eau, SAUR, Communauté de Communes de l'Etang de l'Or), ainsi les données de fonctionnement de la station été libres d'accès. Lors des campagnes régulières plusieurs paramètres étaient relevés :

- Débits d'entrée et de sortie journaliers
- Débit d'extraction des boues journalier
- Evolution de la perméabilité membranaire à 20°C du bassin membranaire R4
- Résultats du suivi d'autosurveillance mensuels

Grâce à ces résultats il été possible de calculer les paramètres opératoires du Bàm (Table II.3).

Table II.3 – Calculs des paramètres opératoires suivis à La Grande-Motte

Paramètre	Équation	Variables
SRT (j)	$\frac{V_b}{Q_w}$ (II.5)	V_b = Volume total des bassins (m ³), Q_w = débit d'extraction des boues (m ³ /j)
HRT (j)	$\frac{V_b}{Q_p}$ (II.6)	Q_p = débit de perméat (m ³ /j)
Flux massique en azote (kgN/j)	$\frac{S_N}{Q_i}$ (II.7)	S_N = concentration NH ₄ ⁺ en entrée (kgN/m ³), Q_i = débit d'entrée (m ³ /j)
Flux massique en DCO (kgDCO/j)	$\frac{S_{DCO}}{Q_i}$ (II.8)	S_{DCO} = concentration DCO en entrée (kgDCO/m ³)
Charge volumique en DCO (kgDCO/m ³ /j)	$\frac{S_{DCO} \times Q_i}{V_b}$ (II.9)	-
F/M (kgDCO/kgMVS/j)	$\frac{S_{DCO} \times Q_i}{V_b \times MVS}$ (II.10)	MVS = concentration en MVS (kg/m ³)
Résistance membranaire (1/m)	$\frac{1}{\mu(20^\circ C) \times L_p(20^\circ C)}$ (II.11)	$L_p(20^\circ C)$ = perméabilité membranaire à 20°C (m ³ /m ² /s/Pa), μ = viscosité dynamique de l'eau à 20°C (Pa.s)

2.2 Pilote Bàm pour le traitement des urines

2.2.1 Caractéristiques

Dans le but de comprendre l'origine et le devenir de la matière organique dissoute au sein d'un procédé de traitement des eaux par Bàm, un pilote de laboratoire a été mis en œuvre dans le cadre du traitement d'un effluent de toilettes de TGV contenant principalement des urines (projet FUI CARBIOSEP, BFG Environnement, Université de Strasbourg, SNCF). Les résultats seront décrits dans le Chapitre VI.

La mise en place d'une étude à l'échelle laboratoire peut parfois être controversée étant donnée la complexité des matrices réelles, ainsi que les différences notoires observées entre

les études à l'échelle pilote et à l'échelle réelle [2]. Cependant, il est extrêmement difficile dans un contexte tel que celui de la STEP de La Grande-Motte, d'identifier la matière organique provenant de l'intrant et celle produite par les bactéries, malgré la mise en place de mesures sur l'effluent d'entrée et le surnageant des bassins. De plus, dans le cadre de l'étude, le pilote devait s'apparenter à un BâM inclus dans un système embarqué de toilettes, limitant ainsi les différences d'échelles entre le cas d'étude et le cas réel. Ainsi, la mise en place du BâM à l'échelle pilote devait respecter un cahier des charges fixé pour le projet, c'est à dire un HRT de 39,09h et une dilution finale de l'urine de 3, correspondant à la dilution de la chasse dans le projet.

Dans ce contexte, l'utilisation d'un BâM à l'échelle pilote est un atout pour initier une prospection sur l'origine et le devenir de la DOM et des variations de la nature de ses composés.

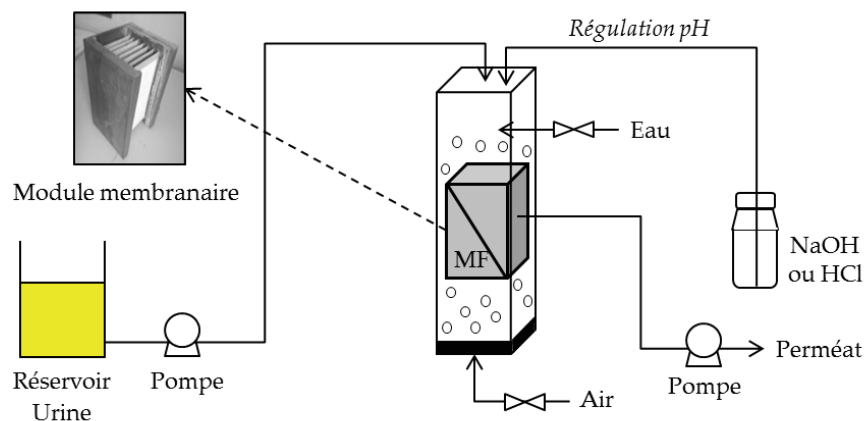


Figure II.2 – Schéma descriptif du BâM à l'échelle pilote mis en place pour traiter l'urine

Le BâM à l'échelle pilote consistait en un réacteur biologique aéré de 4L équipé d'un module membranaire en polyfluorure de vinylidène (PVDF, PolyVinylidene Fluoride, membranes planes) (A3 Company, USA), d'une surface de 0,258m² et ayant un seuil de coupure de 0,14µm (Figure II.2). Le HRT était donc fixé à 39,09 heures et les boues n'ont pas été extraites pendant toute la campagne, mis à part pour les analyses (30mL par semaine, soit un SRT de 941j). Ainsi, les boues activées ont été alimentées pendant 4 mois (120 jours) par de l'urine réelle collectée quotidiennement dans les toilettes « hommes » de l'université de Montpellier (Figure II.3), dont les caractéristiques principales sont décrites dans la Table II.4.

Table II.4 – Résultats de la caractérisation des urines réelles collectées au cours de la mise en œuvre du pilote (valeurs moyennes et écart-types, n=74).

pH	conductivité (mS/cm)	DCO (mgO ₂ /L)	Azote total (mgTN/L)	ratio C/N
7.9 ± 0.6	17.4 ± 5.0	7003 ± 2062	6682 ± 1488	1.0 ± 0.3



Figure II.3 – Photo de l’urinoire de collecte des urines réelles

Seule la nitrification a été réalisée du fait du faible C/N, rendant impossible, en terme de stoechiométrie, la dénitrification totale initialement prévue [156]. En effet, la dénitrification nécessite du carbone organique qui est entièrement consommé par la biomasse hétérotrophe du fait de sa limitation dans le Bàm (faible C/N).

Les réactions liées à la nitrification sont schématisées dans la Figure II.4 et décrites par les Eq. II.12 et II.13.

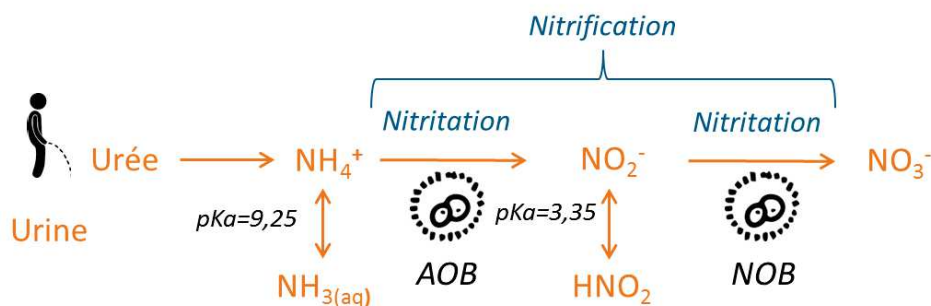
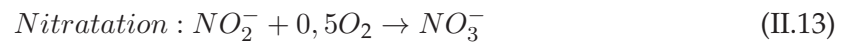
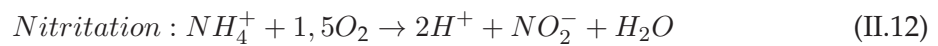


Figure II.4 – Schéma descriptif des réactions liées au processus de nitrification de l’urine avec AOB (Ammonium Oxydizing Bacteria) et NOB (Nitrite Oxydizing Bacteria) les bactéries responsables de la nitritation et nitratation respectivement



La nitrification est donc une réaction aérobie. Pour réaliser une nitrification totale il est nécessaire que l'aération ne soit pas un paramètre limitant, ce qui n'était pas le cas lors de cette étude avec une concentration en dioxygène dissous autour de 6 mgO₂/L.

Les boues activées utilisées pour l'inoculation, ont été récoltées à la STEP de Saint-Clément de Rivières (8000 EH), consistant en un traitement boues activées classiques avec nitrification/dénitrification. Les charges moyennes de la STEP en azote et carbone étant de 0,09kgN/m³/j et de 0,45kgDCO/m³/j, respectivement, il a été nécessaire d'acclimater progressivement les bactéries à un effluent ne contenant que des urines (faible C/N, forte conductivité). Ainsi, la charge fut progressivement montée de 0,2kgN/m³/j à 1,2kgN/m²/j, en assurant une dilution avec de l'eau du robinet (taux de dilution de 16,4 à 3), par un système de chasse d'eau pour compléter le débit fixé par la pompe d'alimentation.

Les taux de dilution de l'urine en entrée étaient fixés à partir du débit de la pompe d'alimentation du Bàm et du taux de nitrification dans le réacteur. Ainsi, lorsque le taux de nitrification était stabilisé au bout de 3 jours (temps fixé pour assurer le mélange du système du fait du HRT de 39h), le débit de la pompe d'alimentation était augmenté de façon à augmenter la charge en azote de 25% par rapport à la charge précédente. Le débit de la chasse d'eau étant asservi au débit de la pompe d'alimentation, celui-ci était diminué par conséquent, ainsi que le taux de dilution.

Il est important de noter qu'au début de l'acclimation du Bàm, la dilution se faisait seulement par l'apport d'eau du robinet dans le réacteur par la chasse d'eau. Toutefois, des problèmes de précipitation de l'urine dans les tuyaux ont été noté. Pour limiter la précipitation, l'urine contenue dans le bac d'alimentation était systématiquement diluée par deux avec de l'eau du robinet [175], permettant par la même occasion d'augmenter la vitesse dans les tuyaux de la pompe d'alimentation. Ainsi, le calcul de la dilution appliquée prenait en compte la dilution dans la cuve d'alimentation et celle de la chasse d'eau.

Pour assurer une bonne nitrification il a été nécessaire de contrôler le pH. En effet, lorsque la nitrification n'est pas complète (en début d'acclimatation), l'apport d'urine augmente le pH et favorise la présence de NH_3 ($\text{NH}_4^+/\text{NH}_3$, $\text{pK}_a = 9,25$) qui est un inhibiteur des bactéries consommant le NH_4^+ (AOB, Ammonium Oxidizing Bacteria) [176]. Lorsque la nitrification est complète, l'étape de nitratisation (Eq. II.13) entraîne quant à elle la diminution du pH. Un pH trop bas peut favoriser la présence de HNO_2 ($\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-$, $\text{pK}_a = 3,35$) qui sont des inhibiteurs de la biomasse nitrifiante pouvant également entraîner la mort des bactéries à trop forte concentration [177]. Pour limiter ces aspects liés aux variations de pH, un contrôleur de pH a permis de maintenir le pH dans le réacteur à une valeur de 6,5 par l'ajout d'acide (HCl, 1mol/L), quand la nitrification n'était pas complète, puis par l'ajout de base (NaOH, 1mol/L) une fois la nitrification stabilisée.

2.2.2 Prélèvements et mesures

Au cours de la mise en œuvre du pilote plusieurs paramètres ont été suivis, dont les fréquences d'analyses dépendaient de chacun d'entre eux :

- Analyses quotidiennes : DCO, pH, conductivité de l'urine pure et du perméat (section 1), tandis que le TN était mesuré seulement sur l'urine pour calculer la charge d'azote en entrée.
- Analyses tous les deux jours : chromatographie ionique des espèces décrites dans la section 1.7 dans l'urine et le perméat.
- Analyses hebdomadaires : MES, MVS et 3DEEM (urine, surnageant de boues et perméat), soit un prélèvement de 30mL de boues activées pour limiter l'extraction de boues (sections 1 et 5.2).
- Echantillons prélevés aux jours 6, 13, 20, 24, 40 et 66 de fonctionnement : analyses par LC-OCD-OND-UVD de l'urine, du surnageant de boues et de perméat par Tony Merle à l'Eawag (Suisse), en suivant la procédure décrite section 5.3.

3 Fractionnement de la DOM

Pour comprendre l'implication de la DOM dans les mécanismes de colmatage, un fractionnement a été réalisé par taille et par hydrophobicité. En effet, ce sont les deux paramètres influençant le plus la filtration de la DOM. Les molécules de grande taille ne passent pas à travers les pores, tandis que les plus petites selon leur caractère d'hydrophobicité peuvent

s'adsorber sur la membrane pour en modifier les propriétés de surface. Le protocole sélectionné était celui de Aiken *et al.* (1992) amélioré par Zheng *et al.* (2014) [53]. Il est composé de quatre étapes distinctes décrites dans la suite de cette partie (Figure II.5).

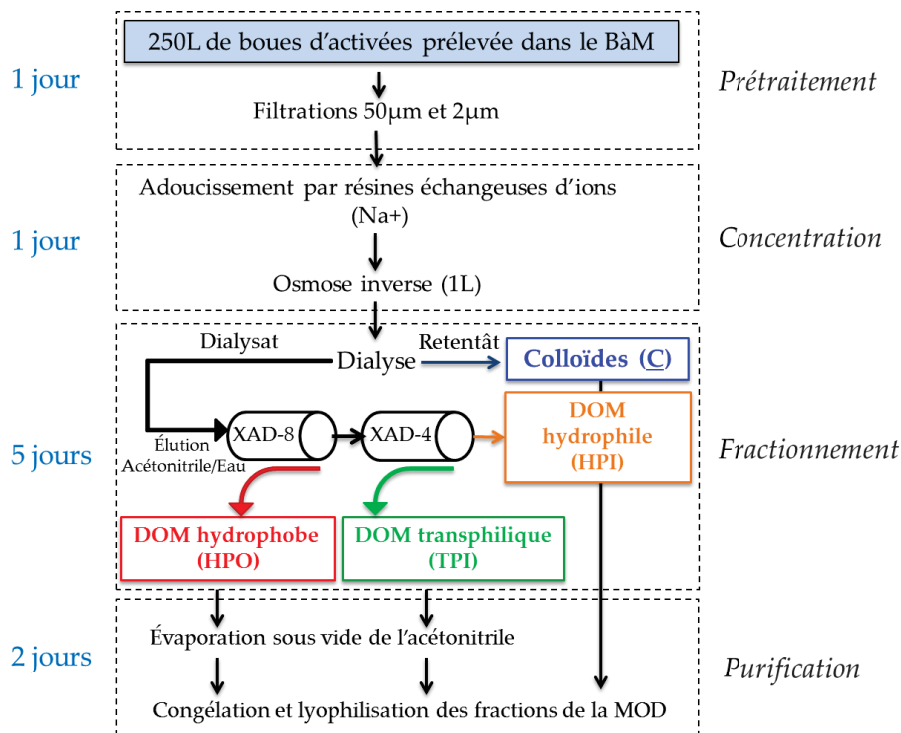


Figure II.5 – Protocole de fractionnement de la Matière Organique Dissoute du surnageant de BâM

3.1 Prélèvements et filtration

Deux campagnes de prélèvements de boues activées ont été réalisées dans le bassin membranaire R4 de la station d'épuration de La Grande-Motte, avant et après ouverture de la seconde ligne début Juin 2015 (27 Mai 2015 et 09 Juin 2016), comme décrit dans la section 2.1.2).

Pour collecter une quantité assez importante de DOM sous forme solide, il a été nécessaire de prélever un volume important de boues activées. En effet, si la concentration en COD du surnageant est d'environ 8mgC/L, il faut compter environ 125L de surnageant pour obtenir 1g de DOM, toutes fractions confondues, sans compter les pertes. Ainsi, lors des deux campagnes un volume de 250L de boues activées a été prélevé pour collecter quantitativement la DOM et pour que le temps de filtration soit raisonnable. Les boues étant très chargées en MES (entre 9 et 13g/L), plusieurs filtrations ont été requises. La première consistait en une filtration sur poches filtrantes (SOFISE, France), ayant un seuil de 50µm, afin de

retenir une majeure partie des MES (Figure II.6). Cette étape a nécessité l'utilisation de plusieurs poches filtrantes, elles-mêmes lavées plusieurs fois car chacune d'entre elle avait une capacité de filtration d'environ 15L de boues activées, avant de nécessiter un lavage à l'eau.



Figure II.6 – Filtration des boues activées du Bàm de La Grande-Motte

Ensuite, l'échantillon filtré à 50 μ m fut passé sur des poches de filtration (SOFISE, France) ayant un seuil de coupure de 2 μ m pour obtenir la matière organique dissoute du surnageant des boues activées de Bàm.

3.2 Concentration des échantillons

Avant de réaliser le fractionnement de la DOM, une concentration de l'échantillon de surnageant collecté fut requise pour diminuer le volume de l'échantillon et par conséquent faciliter le fractionnement et diminuer le temps d'extraction. Cette étape a été réalisée par osmose inverse en boucle fermée, en utilisant un module membranaire en polyamide Filmtec TW30 (Dow, USA) qui a été identifié comme étant moins sensible à l'adsorption de la DOM [178]. Toutefois, la présence des cations Mg²⁺ et Ca²⁺ engendrent des phénomènes de colmatage par précipitation durant l'osmose inverse (scaling) (Figure II.7) [148]. De plus, les cations divalents, en particulier les ions Ca²⁺, peuvent entraîner la formation de complexes organiques-inorganiques lors du fractionnement, amplifiés par l'étape de concentration, modifiant par conséquent le comportement et les propriétés de la DOM [16]. Ainsi, l'étape d'osmose inverse a nécessité un adoucissement préalable par résine échangeuse d'ions (Na⁺) pour s'affranchir des cations Mg²⁺ et Ca²⁺ pour la suite du fractionnement.

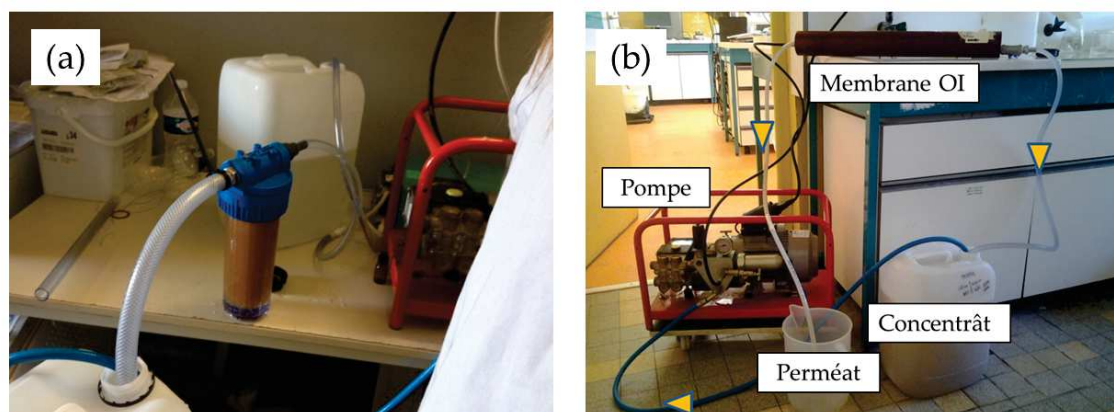


Figure II.7 – Concentration de l'échantillon par (a) adoucissement par résine échangeuse d'ions, puis (b) montage d'osmose inverse

Les échantillons ont été concentrés jusqu'à un volume final de 2,5L par osmose inverse (Figure II.7). Pour s'assurer du bon fonctionnement du montage et qu'il n'y ait pas de fuite de DOM, le COT du perméat était contrôlé régulièrement.

Le prélèvement, les étapes de filtration et de concentration ont été faites directement sur site, tandis que le fractionnement a été réalisé à l'IC2MP de Poitiers.

3.3 Fractionnement par dialyse et résines XAD

3.3.1 Dialyse

Le surnageant concentré collecté a été dialysé en utilisant des sacs de dialyse ayant un seuil de coupure de 3.5kDa (Spectra/Por6 Dialysis Membrane) et placés dans une solution de HCl (0.01mol/L, pH=2) pour permettre la dissolution des acides fulviques et le transfert par gradient osmotique d'après la loi de Fick (Figure II.8) [179], [53].

Le bain de HCl a été renouvelé au bout de 12h, et ce plusieurs fois, jusqu'à ce que l'absorbance à 254nm de la solution de HCl soit la même en début et fin de dialyse pour un même bain. Ensuite, les sacs ont été plongés dans un bain de HF à 0,2mol/L pour dissoudre les colloïdes inorganiques de silice présents dans le rétentât de dialyse. Dans ce cas, il ne faut pas utiliser des béciers en verre. Ce composé étant extrêmement toxique, il ne peut être manipulé que dans des salles de manipulation adaptés à son utilisation. En fin de dialyse, le rétentât correspond à la fraction colloïdale de la DOM, appelée fraction C dans le reste du document, et le dialysât contient les fractions solubles de la DOM.

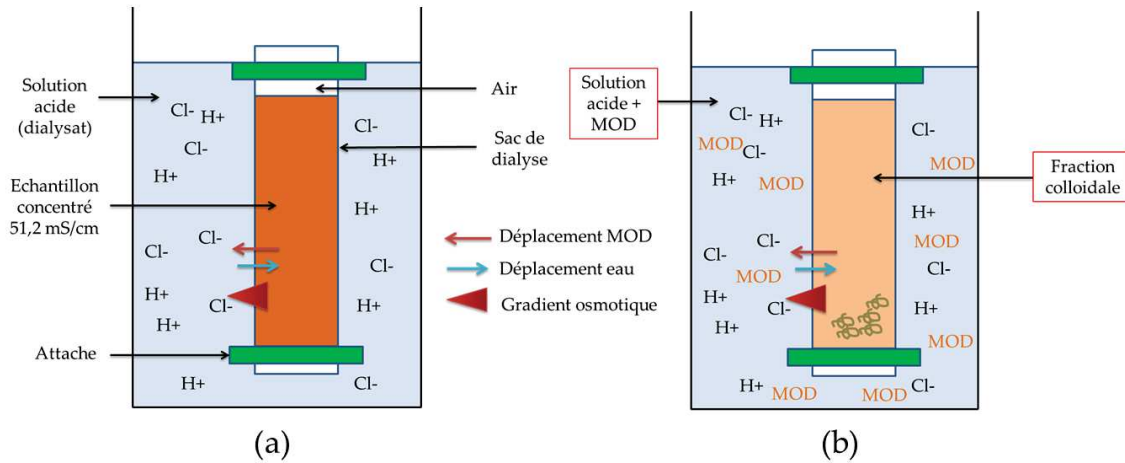


Figure II.8 – Dialyse du concentrât de surnageant de boues activées de Bàm (a) avant et (b) après

3.3.2 Résines XAD

Les résines XAD-8 et XAD-4 ont été placées en tandem pour réaliser le fractionnement de la DOM récoltée dans le dialysât (environ 30L récoltés). Ainsi, la résine XAD-8 permet de retenir la fraction hydrophobe (HPO) et la résine XAD-4 la fraction transphilique (TPI). La fraction récupérée en sortie correspond à la fraction hydrophile (HPI) qui n'est retenue par aucune des deux résines (Figure II.5). Avant fractionnement, les résines ont été rincées par passages successifs de HCl et NaOH à 0.1mol/L, jusqu'à ce que la concentration en COT en sortie soit inférieure à 0,5mgC/L, lors du passage d'eau MilliQ® sur les résines en tandem. Ensuite, le dialysat extrait lors de la dialyse a été passé sur les résines en tandem à un débit calculé par l'Eq. II.14). Ce débit correspond au volume minimum permettant l'adsorption des composés de la DOM.

$$Débit_{résines} = \frac{2 \times V_{résines}}{t_{résines}} \quad (II.14)$$

Avec :

$Débit_{résines}$ = Débit d'alimentation des résines (L/h)

$V_{résines}$ = Volume du lit de résines (L)

$t_{résines}$ = Temps de passage sur la résine fixé à 1 h pour le calcul (h)

Une fois la totalité du volume de dialysât (environ 25L) passée sur les résines, les fractions adsorbées ont été récoltées en passant au même débit 500mL d'un mélange Acétonitrile/Eau (ratio volumique 75%/25% respectivement). Cette étape a été réalisée sur les deux résines séparément et permet de désorber les fractions HPO et TPI de la DOM hydrophile.

La fraction HPI récoltée en sortie étant concentrée en sels qui ont tendance à co-précipiter avec la DOM [148], il faudrait procéder à une distillation zéotrophique pour la purifier. Cette étape étant complexe, la fraction HPI n'a pas été collectée lors de cette étude. Toutefois, une partie de la fraction HPI a tout de même été collectée lors de la dialyse réalisée au préalable. Ceci a permis d'isoler les molécules hydrophiles de taille supérieure à 3,5kDa, qui sont des composés d'intérêt pour l'étude du colmatage.

3.4 Purification des fractions

Les fractions HPO et TPI récoltées ont été évaporées sous vide à l'aide d'un RotaVap[®] pour distiller le solvant d'extraction (acétonitrile). Ensuite, les trois fractions collectées (C, HPO et TPI) ont été lyophilisées pour les obtenir sous forme solide et permettre leur stockage. Etant donné que deux campagnes de collecte de DOM avaient été réalisées, chacune des fractions a été obtenue en duplicat.

3.5 Préparation des solutions de fractions simples et mélangées

Après le fractionnement réalisé à l'IC2MP de Poitiers, les tests de filtrations ont été réalisés à l'Institut Européen des Membranes (IEM). Les fractions lyophilisées ont été pesées et dissoutes dans de l'eau MilliQ[®], tamponnée avec du NaHCO₃ à 1mmol/L, pour préparer une solution mère à 40mgC/L [65]. L'utilisation de la solution NaHCO₃ à 1mmol/L permettait d'étudier les fractions de DOM dans une matrice ionique, car leur comportement aurait été différent dans de l'eau MilliQ pure. De plus, le mélange des fractions de DOM avec seulement deux espèces ioniques permettait de s'affranchir d'éventuels effets de complexation organique-inorganique liés à la présence de Ca²⁺ par exemple. En effet, ceci aurait pu modifier les résultats des tests de filtration et par conséquent les conclusions sur l'effet de la DOM sur la membrane [65].

Les solutions préparées ont ensuite été mises sous agitation pendant 16h à température ambiante avant utilisation, pour s'assurer de leur dissolution totale [53]. Pour les filtrations, les solutions mères ont été diluées dans une solution tamponnée (NaHCO₃ à 1mmol/L) pour obtenir des fractions Colloïdes, Hydrophobes et Transphiliques, seules en solution, à une concentration de 1mgC/L. Des mélanges ont également été réalisés, suivant les concentrations décrites Table II.5, pour étudier les interactions existant entre les différentes fractions lors de la filtration [53].

Table II.5 – Ratios et concentrations utilisés pour la préparation des mélanges de fractions

Fractions	Ratio mélange	Concentration C (mgC/L)	Concentration HPO (mgC/L)	Concentration TPI (mgC/L)
C	-	1,0	-	-
HPO	-	-	1,0	-
TPI	-	-	-	1,0
C+HPO	0,5/1	0,3	0,7	-
C+TPI	0,5/1	0,3	-	0,7
HPO+TPI	1/1	-	0,5	0,5
C+HPO+TPI	1/2/2	0,3	0,35	0,35

4 Tests de filtration

Les fractions isolées et préparées en utilisant le protocole décrit ci-dessus, ont été utilisées pour réaliser des tests de filtration de façon à comprendre leur rôle dans les mécanismes de colmatage.

4.1 Montage expérimental

Les tests de filtration ont été effectués dans une cellule Amicon[®] (Millipore, France) d'une capacité de 50mL et ayant une surface membranaire de 13.85cm². La cellule était reliée à un réservoir, pour pouvoir filtrer de plus grands volumes d'échantillon, et pressurisée via le réseau d'air comprimé. Le montage est décrit Figure II.9.

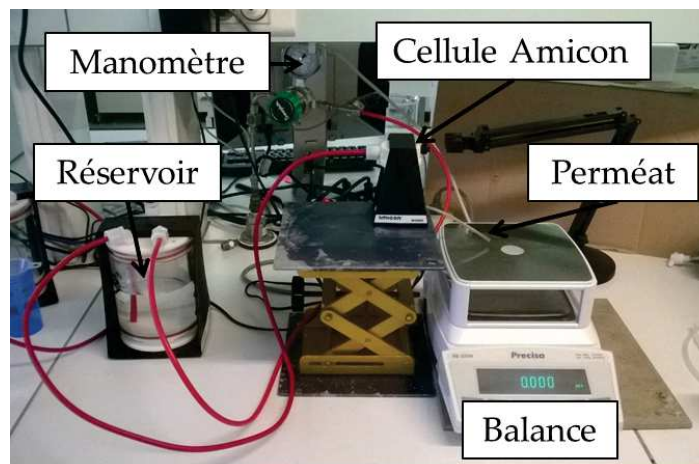


Figure II.9 – Montage expérimental pour les filtrations de fractions de DOM

4.2 Membranes de filtration

Des membranes de microfiltration ont été sélectionnées pour les tests d'après des critères se rapprochant de la littérature, mais aussi des membranes du Bàm de la Grande-Motte.

Ainsi, des membranes PVDF ayant un seuil de coupure de 0,1 μ m (Orélis, France) ont été utilisées pour l'étude [169], [126].

4.3 Protocole de filtration

4.3.1 Préparation des membranes et mesure de perméabilité

Une membrane neuve fut découpée et utilisée pour chaque test de filtration. La membrane était hydratée préalablement dans de l'eau distillée régulièrement renouvelée pendant 24h. Puis, celles-ci étaient conditionnées en filtrant un volume de 500mL à 1bar de façon à rincer les éventuels conservateurs et produits de manufacture qui pourraient gêner la mesure du COT.

La perméabilité de chaque membrane a été déterminée par une mesure de flux (J) par paliers successifs de pression (0,2, 0,5, 0,7 et 1bar) pendant la durée nécessaire à la stabilisation du flux. La pente de la courbe $J=f(\Delta P)$ correspond à la perméabilité de la membrane en $m^3/m^2/s/Pa$. Ainsi, les membranes dont la perméabilité présentait un écart de plus de 30% avec la perméabilité moyenne 20°C (818 ± 223 L/h/ m^2 /bar) n'ont pas été utilisées pour cette étude.

4.3.2 Etude du colmatage des fractions

Après détermination de la perméabilité des membranes, celles-ci ont été utilisées pour la filtration des fractions ou mélanges de fractions de DOM, grâce au montage expérimental décrit section 4.1. Un protocole en cinq étapes a été mis en place pour étudier le colmatage des fractions comme décrit dans la Figure II.10.

- **Filtration 1** : Filtration de 280mL de fraction de DOM à 1mgC/L à une pression de 0,5bar.
- **Lavage par relaxation** : Après la filtration de la fraction de DOM, le réservoir et la cellule Amicon[®] ont été vidés et rincés pour procéder à la première étape de lavage. Pour cela, 15mL de solution tampon ont été introduits dans la cellule Amicon[®]. Puis, le lavage a été réalisé par agitation pendant 10min à 100rpm pour mimer l'étape de relaxation utilisée dans les cycles de filtration de Bàm.
- **Filtration 2** : Filtration de 40mL de tampon à 0,5bar pour calculer la récupération de flux liée au lavage par relaxation.
- **Lavage par rétrolavage** : La membrane fut retournée dans la cellule de filtration pour pro-

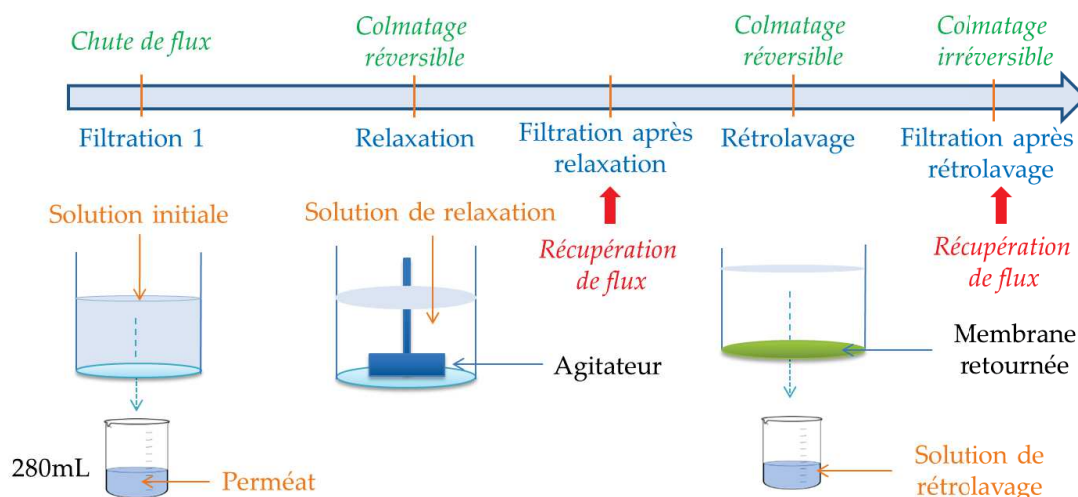


Figure II.10 – Protocole expérimental développé pour étudier les phénomènes de colmatage des fractions de DOM, ainsi que leur réversibilité et irréversibilité

céder à une filtration de 30mL de tampon à 0,5bar, mimant l'étape de rétrolavage utilisée dans les cycles de filtration des B&M.

- **Filtration 3** : Filtration de 30mL de tampon à 0,5bar pour calculer la récupération de flux suite aux deux étapes de lavage.

Chaque fraction, récoltée en duplicat (section 2.1.2), a été filtrée en duplicat. La même chose a été faite pour les mélanges de fractions. Au total, quatre essais ont été réalisés pour les colloïdes, les HPO et les TPI, respectivement, et leurs mélanges.

Lors de la mise en œuvre de ce protocole, les solutions d'alimentation, perméats et solutions de lavages ont été récoltées pour réaliser des analyses de 3DEEM, LC-OCD et COT.

4.4 Exploitation des données de filtration

La filtration d'un solvant à travers d'une membrane à une température donnée est décrite par la loi de Darcy (Eq. II.15).

$$J(T) = \frac{\Delta P}{\mu(T) \times R_m} \quad (\text{II.15})$$

Avec :

$J(T)$ = Flux de perméat à température ambiante ($\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$)

ΔP = Pression transmembranaire (Pa)

$\mu(T)$ = Viscosité de l'eau à température ambiante (Pa.s)

R_m = Résistance de la membrane (1/m)

T = Température ($^{\circ}\text{C}$)

Ainsi, lors de la filtration à pression constante d'une solution contenant des espèces aux propriétés colmatantes, le flux membranaire diminue au cours du temps du fait de l'augmentation de la résistance membranaire. La viscosité étant un paramètre influençant le calcul du débit, ce dernier a été normalisé par la viscosité à 20°C pour toutes les manipulations suivant l'équation II.16, pour permettre la comparaison de toutes les manipulations.

$$J(20^{\circ}\text{C}) = \frac{J(T) \times \mu(T)}{\mu T(20^{\circ}\text{C})} \quad (\text{II.16})$$

Avec :

$J(20^{\circ}\text{C})$ = Flux de perméat à 20°C ($\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$)

$\mu(20^{\circ}\text{C})$ = Viscosité de l'eau à 20°C (Pa.s)

La viscosité à la température T est calculée suivant l'équation II.17.

$$\mu(20^{\circ}\text{C}) = 1,002 \times \exp\left[3,056 \times \frac{(20 - T(t))}{(T(t) + 105)}\right] \quad (\text{II.17})$$

De façon à comparer plus facilement les résultats entre eux, les chutes de flux ont été représentées sous la forme :

$$\frac{J}{J_0} = f(V_{\text{spécifique filtré}}) \quad (\text{II.18})$$

Avec :

J = Flux de perméat à un volume spécifique donné ($\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$)

J_0 = Flux de perméat initial ($\text{m}^3/\text{m}^2/\text{s}$)

$V_{\text{spécifique filtré}}$ = Volume filtré spécifique (m^3/m^2)

Lors de la Filtration 1, l'impact de chaque fraction ou des mélanges, sur l'étape de séparation membranaire, a été estimé en calculant la chute de flux en utilisant l'Eq. II.19.

$$\text{Réduction de flux (\%)} = \left(1 - \frac{J}{J_0}\right) \times 100 \quad (\text{II.19})$$

Pour estimer l'efficacité des étapes de lavages mécaniques, relaxation et rétrolavage, la récupération de flux a été calculée entre deux filtrations avant (n) et après lavage (n+1), en utilisant l'Eq. II.20.

$$\text{Récupération de flux (\%)} = \left[\left(\frac{J}{J_0} \right)_{n+1} - \left(\frac{J}{J_0} \right)_n \right] \times 100 \quad (\text{II.20})$$

$(J/J_0)_{n+1}$ = Flux normalisé à 200L/m² calculé pour la filtration après lavage

$(J/J_0)_n$ = Flux normalisé à 200L/m² calculé pour la filtration avant lavage

La chute de flux au cours du temps s'explique par une augmentation de la résistance au transfert, pouvant être liée à des phénomènes de blocage de pores et/ou la formation d'un dépôt à la surface de la membrane. Pour estimer l'additivité, le synergisme ou l'antagonisme des mécanismes de colmatage lors de la filtration des mélanges de fractions, le modèle des résistances en séries (RIS, Resistance In Series model) a été appliqué. Pour cela, la résistance spécifique α (m/kg) a été calculée à partir de la pente de la droite d'équation t/V en fonction de V (Eq. II.21 et Figure II.11).

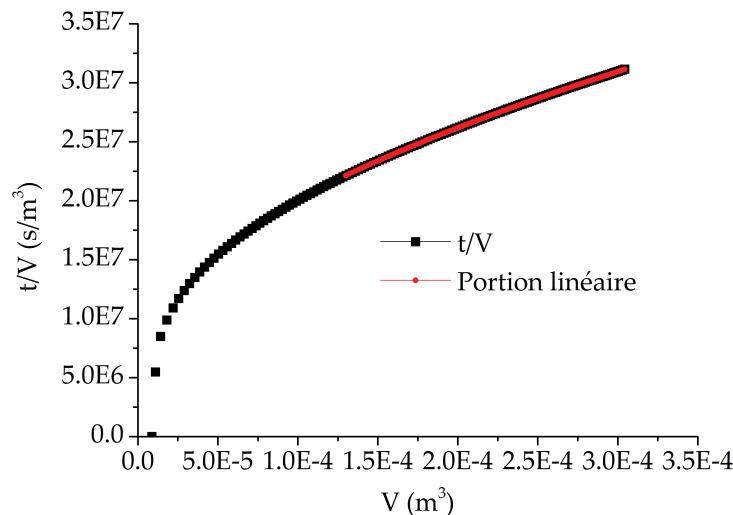


Figure II.11 – Exemple de courbe ratio temps/volume en fonction du volume filtré pour le calcul de la résistance spécifique, obtenue pour la filtration de la fraction Colloïdes

$$t/V = \frac{\mu(^{\circ}C) \times \alpha \times S}{2 \times \Delta P \times A^2} \times V + \frac{\mu(20^{\circ}C)R_m}{\Delta P \times A} \quad (\text{II.21})$$

Avec :

- $\mu(20^{\circ}C)$ = Viscosité de l'eau à 20°C (Pa.s)
 α = Résistance spécifique (m/kg)
 S = Concentration de l'espèce filtrée (kg/m³)
 ΔP = Pression transmembranaire (Pa)
 A = Surface de la membrane (m²)
 R_m = Résistance de la membrane (1/m)

La valeur du α est un outil permettant de comparer les filtrations faites avec les fractions simples et celles faites avec les mélanges de fractions, en calculant la résistance de colmatage obtenue expérimentalement R_f en utilisant l'Eq. II.22

$$R_f = \frac{\alpha \times S \times V}{A} \quad (\text{II.22})$$

Avec :

- R_f = Résistance de colmatage calculée avec la résistance spécifique (1/m)
 α = Résistance spécifique (m/kg)
 S = Concentration de la fraction (kg/m³)
 V = Volume filtré (m³)
 A = Surface de la membrane (m²)

A partir de cette expression de la résistance membranaire, il est possible d'introduire les proportions de chacune des fractions dans le calcul de la résistance lors de la filtration des mélanges. Pour le mélange de deux fractions (fraction 1 et fraction 2), la résistance de colmatage théorique attendue a été calculée grâce au modèle des résistances en séries (Eq. II.23) :

$$R_{RIS} = [\alpha_1 \times S_1 + \alpha_2 \times S_2] \times \frac{V}{A} \quad (\text{II.23})$$

Avec :

- R_{RIS} = Résistance du modèle des résistances en séries (RIS) (1/m)
 α = Résistance spécifique (m/kg)
 S = Concentration de la fraction (kg/m³)
 1, 2 = Indices correspondant aux fractions 1 et 2 mélangées

Ensuite, la R_{RIS} est comparée à la R_f obtenue expérimentalement pour le mélange étudié. Trois cas peuvent être observés :

- $R_{RIS} = R_f$: effet additif sur le colmatage
- $R_{RIS} > R_f$: effet antagoniste sur le colmatage
- $R_{RIS} < R_f$: effet synergique sur le colmatage

4.5 Bilan de matière

Un bilan de matière a également été réalisé à partir de la mesure des concentrations en COT dans les solutions d'alimentation, le perméat, ainsi que dans les solutions de relaxation et de rétrolavage. Les masses de carbones correspondant à chacune d'entre elles ont été calculées en utilisant l'Eq. II.24.

$$m_{solution} = COT \times V_s \quad (II.24)$$

Avec :

$m_{solution}$ = Masse de carbone dans la solution (mgC)

COT = Concentration en COT mesurée dans la solution (mgC/L)

V_s = Volume de la solution (L)

Après les deux étapes de lavage, la masse de carbone résiduel sur la membrane, appelé carbone irréversible, a été estimée en utilisant l'Eq. II.25.

$$m_{irreversible} = m_{initial} - m_{permeate} - m_{relaxed} - m_{bacwashed} \quad (II.25)$$

Avec :

$m_{irreversible}$ = Masse de carbone irréversible déposée sur la membrane (mgC)

$m_{initial}$ = Masse de carbone de la solution filtrée (mgC)

$m_{permeate}$ = Masse de carbone dans le perméat de filtration (mgC)

$m_{relaxed}$ = Masse de carbone dans la solution de relaxation (mgC)

$m_{bacwashed}$ = Masse de carbone dans la solution de rétrolavage (mgC)

5 Méthodes de caractérisation de la DOM

5.1 Méthodes colorimétriques

Les SMP sont souvent définis comme étant la somme des protéines et polysaccharides présents en solution. Ainsi, au cours de cette étude, leurs concentrations ont été mesurées

par des méthodes colorimétriques.

5.1.1 Détermination de la concentration en protéines

Pour s'affranchir des interférences liées à la présence de substances humiques, les concentrations en protéines ont été mesurées avec la méthode de Lowry modifiée [25]. Cette dernière consiste en une complexation en milieu alcalin entre les liaisons peptidiques et le sulfate de cuivre CuSO_4 . Ce complexe réduit ensuite les acides phosphomolybdiques et phosphotungstiques, contenus dans le réactif Phénol-Folin-Ciocalteu, en un second complexe de couleur bleue dont l'absorbance à 750nm est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. En parallèle, la même mesure est effectuée sans CuSO_4 . Dans ce cas, ce ne sont que les acides humiques et les acides aminés chromogènes qui répondent au signal.

La première étape du protocole consiste en la réalisation de deux gammes étalon de BSA de 0 à 100mg/L, l'une avec du CuSO_4 et l'autre sans CuSO_4 , dont les mesures sont réalisées en triplicat.

Les solutions étalons ont été préparées suivant les concentrations décrites dans la Table II.6.

Table II.6 – Préparation des solutions étalons de BSA

Concentration (mg/L)	0	20	40	60	80	100
Volume ED (mL)	1	0.8	0.6	0.4	0.2	0
Volume BSA (100mg/L)	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1

Ensuite, les solutions de réactifs à préparer pour faire les gammes étalons et le dosage des échantillons sont les suivantes :

- (A) $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1% m/v), soit 1g dans 100mL
- (B) Tartrate de sodium ($\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{Na}_2$) (2% m/v), soit 2g dans 100mL
- (C) NaOH (0,2mol/L), soit 2g dans 250mL
- (D) Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (4% m/v), soit 4g dans 100mL
- (E) Réactif de Folin (2N) (F) 49 mL(D)+49mL(C)+1mL(A)+1mL(B)
- (G) (E)/2
- (H) 49 mL(D)+49mL(C)+1mL d'eau MilliQ+1mL(B)

Une fois les solutions, préparées il est possible de passer aux étapes de réaction et de

mesures en suivant la procédure Table II.7, à réaliser en triplicat pour chaque échantillon (gamme étalon, puis échantillon à mesurer).

Table II.7 – Protocole expérimental de la méthode de Lowry modifiée

En présence de CuSO ₄	En absence de CuSO ₄
5mL de (F)	5mL de (H)
+ 1mL d'échantillon	
Homogénéisation + Repos pendant 10 minutes à température ambiante	
+ 0,5mL de (G)	
Homogénéisation + repos 15min à l'obscurité	
Homogénéisation + repos 15min à l'obscurité	
Lecture à 750nm contre un blanc	

Ensuite, à partir de résultats d'absorbance, il est possible de déterminer la concentration en protéines en utilisant les équations suivantes :

$$Abs(protéines) = 1,25[Abs(avecCuSO_4) - Abs(sansCuSO_4)] \quad (II.26)$$

Avec, Abs(protéines) l'absorbance des protéines seules dans l'échantillon, Abs(avec CuSO₄) l'absorbance mesurée dans le test avec ajout de CuSO₄ et Abs(sans CuSO₄) l'absorbance mesurée dans le test sans ajout de CuSO₄.

5.1.2 Détermination de la concentration en polysaccharides

Lors de cette étude, les polysaccharides ont été quantifiés en utilisant la méthode de Dubois [26]. Cette méthode permet de quantifier les sucres totaux réducteurs (fonctions carbonyles C=O) en procédant à une hydrolyse acide préalable. Ainsi, les sucres forment des composés du type furfural et hydroxy-methyl-furfural qui sont des condensés du phénol, pour former un complexe de couleur orange. Il est ensuite possible de mesurer l'absorbance de l'échantillon à 490nm, à l'aide d'un spectrophotomètre. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose de la gamme étalon.

La première étape du protocole consiste en la réalisation d'une gamme étalon de D-glucose allant de 0 à 150mg/L, en suivant les proportions décrites dans la Table II.8.

Ensuite, 1mL d'échantillon (étalon ou échantillon mesuré), ont été mélangés à 1mL de phénol à 5%. Après homogénéisation, 5mL d'acide sulfurique à 98% ont été ajoutés, les tubes

Table II.8 – Préparation des solutions étalons de D-glucose

Concentration (g/L)	0	0,03	0,06	0,09	0,12	0,15
Volume ED (mL)	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0
Volume gluucose (mL)	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1

ont ensuite été laissés à température ambiante pendant 10min. Puis, le tube était homogénéisé de nouveau et maintenu à température ambiante pendant 30min. Enfin, l'absorbance des échantillons a été mesurée à 490nm et comparée avec la courbe de calibration réalisée avec du glucose (mgGlu/L).

5.2 Spectroscopie de fluorescence 3D (3DEEM)

5.2.1 Mode opératoire

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un spectrofluoromètre Perkin-Elmer LS-55 sur des échantillons contenus dans une cuvette en quartz, ayant une fente de 1mm et placée dans une cellule maintenue à 25°C grâce à un cryostat. Une lampe de xénon, émettant un rayonnement pulsé (20kW pour 8µs) de 200 à 500nm, permettait l'excitation des molécules aux propriétés de fluorescence, contenues dans les échantillons. La fluorescence d'émission était enregistrée à 90° par rapport au faisceau d'excitation. L'incrément des valeurs d'émission étaient fixé en ajustant la vitesse de scan (Table II.9) et l'acquisition des données fut réalisée grâce au logiciel Biolight Studio.

Table II.9 – Paramètres pour les analyses de fluorescence3D.

Paramètre	Valeur	Unité
λ_{ex}	200-500	nm
λ_{em}	280-600	nm
Incrément en émission	10	nm
Largeur de fente excitation	10	nm
Largeur de fente emission	10	nm
Vitesse de scan	1000	nm/min

5.2.2 Spectres de fluorescence

Les spectres ont été représentés sous forme de matrices excitation/émission en 3D (3DEEM). En effet, le spectrofluoromètre balaye un large spectre de longueurs d'ondes d'excitation et d'émission données et mesure l'intensité émise associée. Ainsi, le spectre résultant est carac-

térisé par les longueurs d'ondes d'excitation (nm) en ordonnée, longueurs d'ondes d'émission en abscisses (nm) et l'intensité en cote (A.U, Arbitrary Unit).

La cartographie de Chen *et al.* (2003) décrite Figure I.8 a été utilisée pour analyser de façon qualitative les spectres de 3DEEM. Ceci a permis, dans un premier temps, d'observer l'évolution de la constitution des échantillons en fonction des échantillons analysés.

5.2.3 Dilution et linéarité pour la quantification

Lorsque les échantillons sont trop concentrés il peut y avoir ce que l'on appelle le phénomène d'auto-quenching ou inner filter effect [118], [180], [181]. Dans ce cas, les molécules présentes absorbent les radiations de fluorescence émises par d'autres molécules, ce qui amplifie l'intensité de fluorescence mesurée. Ainsi, la loi de Beer-Lambert n'est plus vérifiée. Pour les analyses, il était donc nécessaire de s'affranchir de ce phénomène.

Il existe plusieurs méthodes pour s'affranchir de l'auto-quenching [180], dont les plus simples consistent en une dilution. Deux méthodes peuvent être employées pour le choix de la dilution :

- **Méthode de mesure de l'absorbance** : l'absorbance de l'échantillon est mesurée à 254nm [182], [96] ou 360nm [183]. Si elle est supérieure à 0,1, l'échantillon doit alors être dilué avec de l'eau MilliQ®.
- **Méthode par dilutions successives** : Des mesures d'intensité à différentes dilutions sont réalisées aux longueurs d'excitation/émission correspondant aux maxima d'intensité du spectre de 3DEEM obtenu sans dilution. La dilution de travail doit ensuite être choisie dans la zone linéaire, où la loi de Beer-Lambert est vérifiée (Figure II.12).

La partie linéaire est caractérisée par une proportionnalité entre la concentration en fluorophores et l'intensité en unité arbitraire (A.U) (Eq. II.27).

$$I_f = K \times S_f \quad (\text{II.27})$$

Avec :

I_f = Nombre de protons émis

K = Facteur correspondant à $\varphi \times I_0 \times \epsilon \times l$

φ = Rendement quantique

I_0 = Intensité de la lumière (A.U)

ϵ = Absorptivité molaire (L/mol/cm)

l = Chemin optique de la lumière (cm)

S_f = Concentration en fluorophores (L/mol)

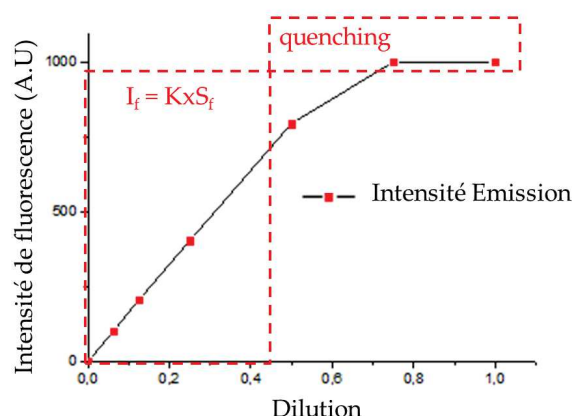


Figure II.12 – Choix de la dilution adéquate pour les analyses de fluorescence

Dans cette étude, la seconde méthode a été sélectionnée de façon à fixer un taux de dilution identique pour tous les échantillons analysés dans une même étude, de manière à pouvoir les comparer. Les taux de dilution fixés pour chaque échantillon sont référencés dans la Table II.10.

Table II.10 – Taux de dilution fixés pour l'ensemble des échantillons étudiés

Echantillon	Taux dilution
Surnageant de boues activées du Bàm de La Grande-Motte	4
Perméat du Bàm de La Grande-Motte	4
Urine	1000
Surnageant de boues activées du Bàm pilote traitant des urines	16
Perméat du Bàm pilote traitant des urines	16

Après obtention des spectres, une analyse semi-quantitative des données a également pu être réalisée, à partir de la cartographie de Chen *et al.* (2003) [3]. En effet, dans la même étude, les auteurs ont également développé la méthode FRI, basée sur la loi de Beer-Lambert et permettant de calculer la concentration en fluorophores qui fluorescent dans chaque zone. La méthode est qualifiée de semi-quantitative, car les molécules qui fluorescent ont un nombre de fluorophores variables, ne permettant pas d'établir un lien direct entre concentration en fluorophores et concentration en composés de la DOM.

5.2.4 Exploitation des données

Avant de procéder à une analyse semi-quantitative, il est nécessaire de corriger les spectres bruts obtenus lors de la mesure de 3DEEM. En effet, les spectres de fluorescence présentent des bandes de diffusion parasites, dues à la lumière d'excitation et de sa diffraction. Ce sont les bandes de Raman et Rayleigh (Figure II.13).

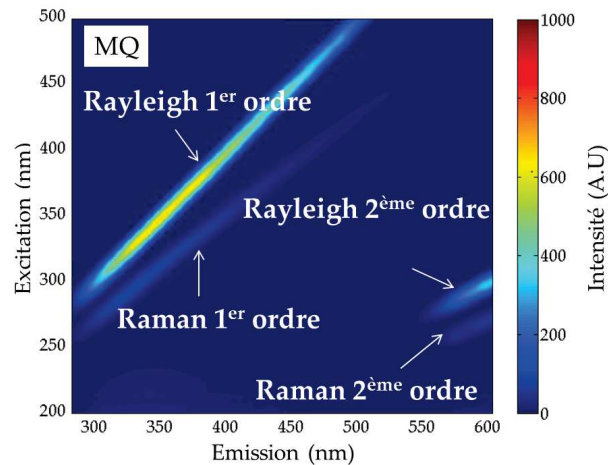


Figure II.13 – Blanc de 3DEEM réalisé avec de l'eau MilliQ® et bandes de diffusion associées

Le programme MATLAB® proposé par Zepp *et al.* (2004) [184] a été mis en œuvre pour s'affranchir des bandes de diffusion parasites. La méthode consiste en la soustraction de la matrice de l'eau MilliQ® à celle de l'échantillon. Ensuite, une interpolation est réalisée (triangulation de Delaunay) dans les zones soustraites pour obtenir le spectre corrigé (Figure II.14).

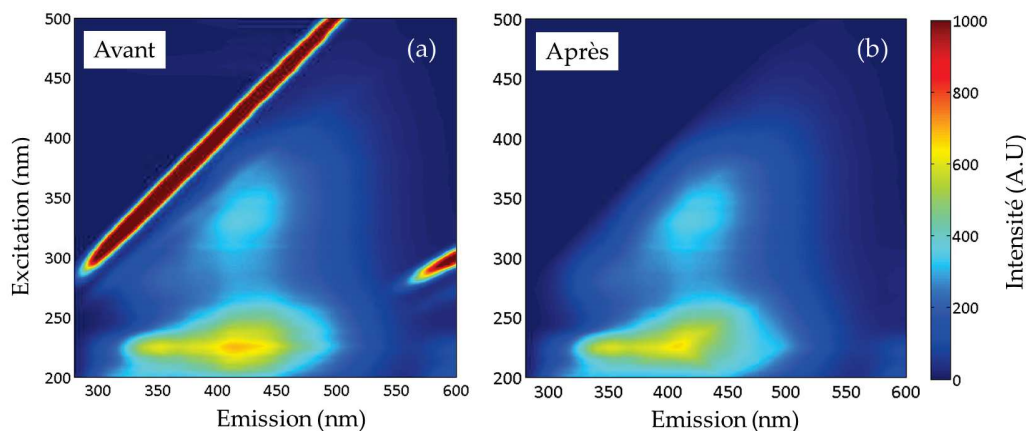


Figure II.14 – Exemples de spectres de 3DEEM (a) avant et (b) après correction

Suite à la correction, les valeurs de la matrice de fluorescence corrigée ont été normalisées

par la valeur de l'aire du pic de Raman pour obtenir des intensités en unité Raman (R.U, Raman Unit) et non plus unité arbitraire (A.U). Cette étape permet de s'affranchir des biais liés à chaque instrument. Il est ainsi possible de comparer des spectres d'une étude à l'autre.

L'aire du pic de Raman a été calculée sur un spectre obtenu avec de l'eau MilliQ® [185] en balayant en émission entre 340 et 410nm, avec un incrément de 2nm, à la longueur d'onde d'excitation de 348nm.

$$\Phi(i) = MF(i) \sum_{ex} \sum_{em} I(\lambda_{ex} \lambda_{em}) \Delta\lambda_{ex} \Delta\lambda_{em} \quad (\text{II.28})$$

Avec :

- $\Phi(i)$ = Volume sous la courbe dans la région (i) (R.U.nm²)
- $MF(i)$ = Facteur de normalisation
- $I(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ = Intensité de fluorescence du couple excitation/emission (R.U)
- λ_{ex} = Longueur d'onde en excitation (nm)
- λ_{em} = Longueur d'onde en émission (nm)
- $\Delta\lambda_{ex}$ = Pas d'acquisition en excitation (nm)
- $\Delta\lambda_{em}$ = Pas d'acquisition en émission (nm)

Pour comparer les volumes de fluorescence $\Phi(i)$ les uns par rapport aux autres, il est nécessaire de les normaliser par le ratio entre l'aire dans laquelle ils ont été calculés et l'aire totale du spectre, appelé MF(i) (Eq II.29).

$$MF(i) = \frac{Aire_{tot3DEEM}}{Aire_{region(i)}} \quad (\text{II.29})$$

Avec :

- $Aire_{tot3DEEM}$ = Aire totale du spectre (nm²)
- $Aire_{region(i)}$ = Aire de la région (i) (nm²)

Le tableau II.11 décrit les différents MF(i) utilisés lors de cette étude.

Pour calculer le volume de fluorescence d'une nouvelle région, il est nécessaire de calculer un nouveau MF(i) en utilisant l'Eq. II.29. Dans cette étude, du fait des spectres de 3DEEM observés, les régions I et II, ont été fusionnées en une nouvelle région I+II et par conséquent un MF(I+II) a été calculé (Table II.11).

Table II.11 – Valeurs des MF(i) associées aux différentes régions de fluorescence

Région(i)	MF(i)
RégionI+II	14.28
RégionIII	6.42
RégionIV	9.54
RégionV	1.5

La Table II.12, récapitule l'ensemble des abréviations et des propriétés associées à chaque région de fluorescence.

Table II.12 – Abréviations et caractéristiques des familles de fluorophores détectées par 3DEEM dans cette étude

Région	I+II	III	IV	V
Abréviation fluorophore	Prot1+2-like	FA-like	SMP-like	HA-like
Abréviation Volume de fluorescence	Prot1+2-like _{3DEEM}	FA-like _{3DEEM}	SMP-like _{3DEEM}	HA-like _{3DEEM}
Longueurs d'ondes Ex/Em	Ex=200-250nm Em=280-380nm	Ex=200-250nm Em=380-600nm	Ex=250-350nm Em=280-380nm	Ex= 250-500nm Em=380-500nm
Caractéristiques	Fluorophores associés à des protéines-like aromatiques (Tyr)	Fluorophores associés à des acides fulvique-like	Fluorophores associés à des protéines-like issues des SMP (Trp)	Fluorophores associés à des acides humique-like et leurs produits de dégradation

Le suffixe *-like* implique que les molécules détectées par fluorescence regroupent les protéines mais aussi des molécules de nature proche.

5.3 LC-OCD-OND

5.3.1 Mesures

Les analyses de chromatographie par LC ont été réalisées dans deux laboratoires :

- IC2MP, Poitiers

Dans le but de caractériser les fractions extraites du surnageant des boues, des analyses de LC-OCD ont été réalisées à l'IC2MP (Poitiers), par Benoit Teychené, en suivant le protocole ci-après).

Une colonne à base de silice ReproSil 200s (AIT, France, taille de pores 200Å), ayant une gamme de séparation des protéines comprise entre 10 et 500kDa, a été utilisée pour séparer les composés de la DOM. Le débit d'éluant, consistant en une solution de phosphate de

sodium 10mM à pH = 7, était fixé à 1mL/min. Le TOC en sortie de colonne a été mesuré par un TOC Analyzer M-serie (GE, France).

- Eawag, Suisse

Les échantillons collectés pour le suivi de LGM et du pilote Bàm traitant des urines, ont été analysés par LC-OCD-UVD à l'Eawag par Jacqueline Traber et Tony Merle, respectivement, en suivant la procédure décrite ci-dessous.

Les échantillons ont été passés à travers une colonne de chromatographie d'exclusion stérique Tosoh (Toyopearl TSK HW-50S, 250x20mm, gamme de séparation 20kDa-100Da) à un débit de 1 mL/min. Un tampon phosphate (24mM, pH = 6.6) a été utilisé comme éluant. Dans un premier temps, le CO₂ inorganique est éliminé de l'échantillon par ajout d'acide phosphorique (60mM, pH = 1,2), puis un détecteur UV en ligne réglé permet la mesure de l'absorbance UV₂₅₄. Ensuite, une partie du débit est envoyée sur réacteur-DONOX (lampe UV capillaire spécifique) et dans un réacteur Graentzel à couche mince. Ainsi les composés azotés sont entièrement oxydés en nitrate et mesurés avec un détecteur UV à 220nm. Tandis que les composés carbonés sont entièrement oxydés en CO₂ et quantifiés par un détecteur IR Siemens.

5.3.2 Exploitation des données

Les chromatogrammes sont divisés en plusieurs pics identifiés selon leur poids moléculaire. A partir des chromatogrammes obtenus, il est possible d'intégrer les pics associés à chaque fraction pour obtenir leur concentration en carbone organique, azote organique, ainsi l'absorbance UV₂₅₄.

La Table II.13, récapitule l'ensemble des abréviations, et des propriétés associées à chaque fraction détectée par LC-OCD-OND-UVD, qui ont été utilisées dans ce manuscrit.

A partir des données carbone et d'azote organique dissous, il est possible de calculer les concentrations en protéines et polysaccharides provenant des biopolymères [5]. En effet, les biopolymères (BP) sont constitués de protéines et polysaccharides. Ainsi, l'azote mesuré dans cette fraction est supposé être lié aux protéines seulement, car il est l'élément constitutif de base des acides aminés. Le rapport C/N dans les protéines étant estimé à 3, il est donc possible de calculer le pourcentage de protéines dans les biopolymères détectés par LC-OCD-OND (Proteins in BP, Proteins in BioPolymers), d'après Eq. II.30 [5].

Table II.13 – Abréviations et caractéristiques des familles de composés détectées par LC-OCD-OND-UVD dans cette étude

Fraction	Biopolymères	Substances humiques et building blocks	Acides à faible poids moléculaire	Neutres à faible poids moléculaire
Abréviation fraction	BP	HS+BB	LMW-A	LMW-N
Abréviation concentration (mgC/L ou mgN/L)	BP _{OCD} /BP _{OND}	HS+BB _{OCD}	LMW-A _{OCD}	LMW-N _{OCD}
MW (Da)	> 20 000	1000 - 300	< 350	< 350
Caractéristiques	Protéines et polysaccharides	Substances humiques et leurs produits de dégradation	Molécules sécrétées par les bactéries ou correspondant à des produits de dégradation finale de composés organiques	Principalement composés d'alcools, aldéhydes, cétones, sucres et acides aminés

$$Proteins\ in\ BP\ (\%) = \frac{BP_{OND} \times 300}{BP_{OCD}} \quad (II.30)$$

Avec :

Proteins in BP = Pourcentage de protéines dans la fraction biopolymères

BP_{OND} = Azote organique dissous dans la fraction BP (mgN/L)

BP_{OCD} = Carbone organique dissous dans la fraction BP (mgC/L)

Ainsi, les protéines issues des BP seront qualifiées de Proteins from BP, tandis que les polysaccharides seront qualifiés de Polysaccharides from BP.

5.4 Quantification des groupements fonctionnels par THM-GC/MS

Pour quantifier les groupements fonctionnels contenus dans les molécules des fractions isolées du surnageant de LGM selon la procédure décrite section 3, la thermo-chemolyse double shot combinée à une chromatographie gazeuse et une spectrométrie de masse (THM-GC/MS, THERMo-chemolysis coupled with Gaz Chromatography and Mass Spectroscopy), a été utilisée.

La méthode Pyr-GC/MS est une méthode souvent utilisée pour quantifier le pourcentage relatif de la masse des groupements contenus dans les molécules organiques, comme décrit dans la section 3.2. L'ajout d'une étape d'alkylation *in-situ*, lors de la pyrolyse, est appelée thermo-chemolyse. Cette étape permet, contrairement à la pyrolyse, d'hydrolyser des groupements polaires en hydrolysant et méthylant les ester et liaisons ester. Ceci favorise la dépolymérisation et la méthylation de structures moléculaires telles que la lignine. De plus,

cette technique permet de produire des esters méthyliques à partir des acides carboxyliques et des éthers méthyliques à partir des groupements hydroxyles, rendant ces composés polaires volatiles et permettant leur détection par chromatographie gazeuse [186].

Les mesures ont été réalisées par Benoit Teychené et Laurent Lemée à l'IC2MP de Poitiers. Ainsi, la thermo-chemolyse a été faite en utilisant de l'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH, TetraMethyl Ammonium Hydroxyde) comme agent d'alkylation. La température d'injection était fixée à 250°C et le pyrolyseur utilisé était un Frontier Lab EGA 2020 pyrolyzer, équipé d'un échantillonneur/injecteur AS-1020E, couplé avec une chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse (Shimadzu QP 2010 Ultra). Pour préparer les échantillons, 0,5mg de fractions de DOM ont été mélangées à 5µL d'une solution méthanolique de TMAH, tel que le ratio volumique soit égal à 50/50, et placés dans une cuve en acier inoxydable. Cette méthode consistait à réaliser deux pyrolyses, ou deux shots, à deux températures différentes sur le même échantillon.

Le premier shot consistait en une thermodesorption couplée avec une méthylation *in-situ*, allant de 100°C à 350°C avec un incrément de température de 5°C/min. Le second shot consistait quant à lui en une pyrolyse isotherme à 600 °C pendant 1 min, sur le même échantillon ayant subi le premier shot. Entre les deux étapes, l'échantillon était maintenu à température ambiante dans le pyrolyseur.

La chromatographie gazeuse a été réalisée dans une colonne capillaire de 30m de longueur, 0,25mm de diamètre interne et 0,25µm d'épaisseur. La température a été augmentée de 50 à 300°C, avec un incrément de 5°C/min, puis maintenue à 300°C pendant 9min. Pour la détection, un spectromètre de masse quadripolaire équipé d'un mode électrospray (70eV) permettait l'ionisation des groupements pyrolysés, tandis que la température de la source était fixée à 220°C. Les composés organiques ont été identifiés en comparant les spectres obtenus avec des spectres de composés standards et des spectres provenant de la banque de données du National Institute of Standards and Technology (NIST).

6 Suivi de la Biomasse Active

Après chaque prélèvement réalisé à la station d'épuration de La Grande-Motte, 1L de boues activées était placé pendant 24h dans une colonne d'aération, pour permettre la mise

en place de la respiration endogène (plus de substrat disponible). Dans ce cas, les besoins en oxygène ne sont liés qu'aux besoins cellulaires et la mort cellulaire. Ensuite, des mesures de respirométrie ont permis de quantifier la concentration des différentes familles de bactéries constituant la biomasse active ; bactéries hétérotrophes (X_H) et bactéries autotrophes AOB (Ammonium Oxidizing Bacteria, genre *Nitrosomonas*) (X_{AOB}) et NOB (Nitrite Oxidizing Bacteria, genre *Nitrobacter*) (X_{NOB}).

Les méthodes respirométriques permettent de suivre l'activité des micro-organismes à travers leur consommation d'oxygène au cours du temps. La pente de la droite obtenue correspond à la vitesse spécifique de consommation de l'oxygène dissous (OUR, Oxygen Uptake Rate, en $\text{mgO}_2/\text{L}/\text{h}$) [187].

6.1 Protocole

Après 24h d'aération, trois mesures de respirométrie ont été réalisées, à l'aide d'une sonde à oxygène (Oxi 340i, WTW, USA) et d'une cellule respirométrique de 250mL placée sous agitation (Figure II.15), suivant le protocole développé à l'IEM [45], [188].

1. Respiration endogène : Mesure du OUR endogène qui correspond à la consommation d'oxygène sans présence de substrat biodégradable (OUR_{tot}).
2. Respiration des Hétérotrophes+AOB : Mesure du OUR endogène pour vérification de la fiabilité de la mesure, puis injection de 2mL de ClO_3 (280,8g/L). Le ClO_3 étant un inhibiteur des NOB, l'injection permet de mesurer la consommation d'oxygène nécessaire au maintien de la biomasse hétérotrophe et autotrophe AOB (OUR_{H+AOB}).
3. Respiration des Hétérotrophes+NOB : Mesure du OUR endogène pour vérification de la fiabilité de la mesure, puis injection de 0,4mL de Allo-thio-urée ou ATU (6,25g/L). L'ATU étant un inhibiteur des AOB, l'injection permet de mesurer la consommation d'oxygène nécessaire au maintien de la biomasse hétérotrophe et autotrophe NOB (OUR_{H+NOB}).

6.2 Exploitation des données

Dans le modèle ASM3 (Activated Sludge Model n°3), la respiration endogène est une étape explicite pour laquelle les besoins associés en oxygène (S_O) sont pris en compte (Figure II.16).

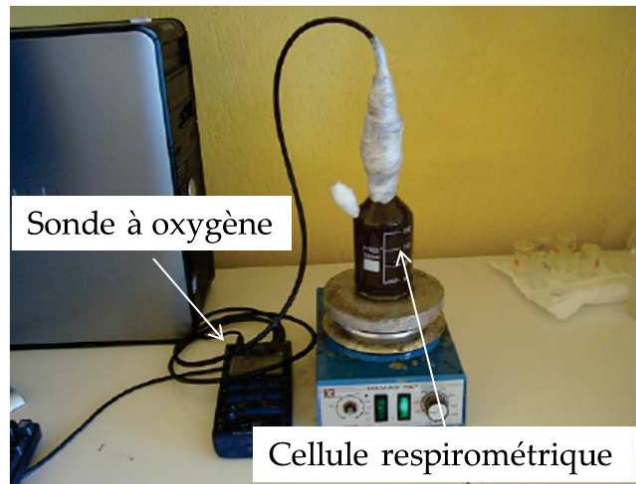


Figure II.15 – Montage pour le suivi respirométrique de la Biomasse Active

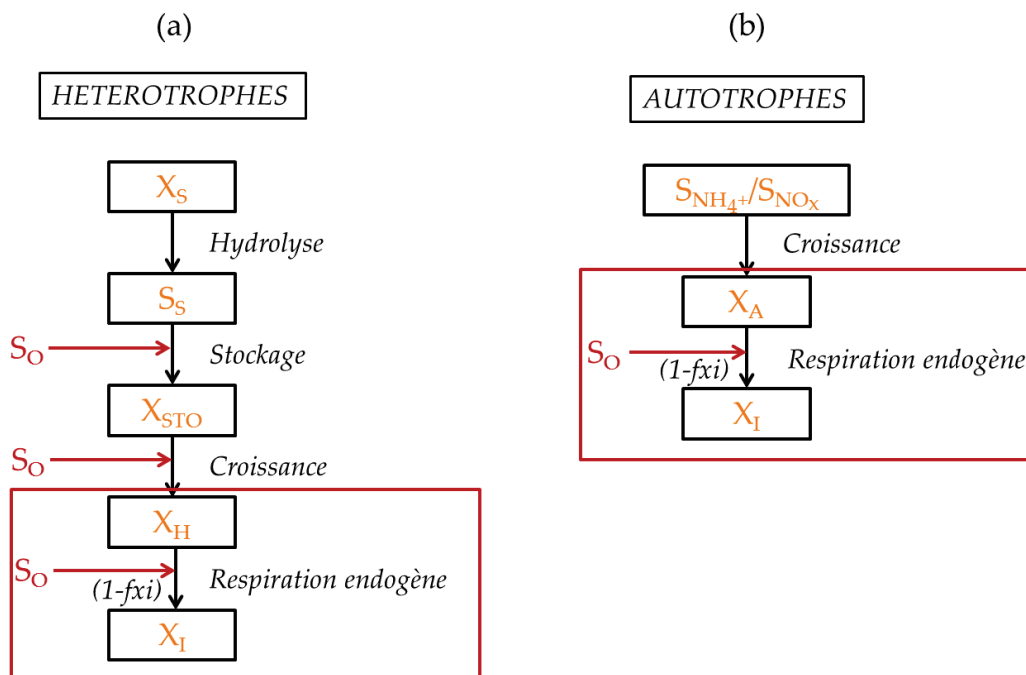


Figure II.16 – Processus métaboliques considérés dans le modèle ASM3 pour (a) la population hétérotrophe (X_H) et (b) la population autotrophe AOB+NOB (X_A). Avec X_S : la concentration en substrat organique particulaire, S_S : la concentration en substrat organique dissous, X_{STO} : la concentration des produits de stockage, X_I : la concentration en composés inertes, S_O : la concentration en dioxygène dissous et $S_{NH_4^+}/S_{NO_x}$: les concentrations en azote sous forme ionique (NH_4^+ , NO_3^- et NO_2^-)

A partir du modèle ASM3 et de la matrice de Peterson associée, Benaliouche *et al.* (2017) [188] ont exprimé les besoins en dioxygène dissous liés à la respiration endogène en fonction de la concentration en biomasse active. Ainsi, les équations correspondant aux trois tests respirométriques décrits dans la section 6.1 sont décrites ci-dessous (Eq. II.31, II.32 et II.33).

$$OUR_{tot} = (1 - f_{xi})[b_H X_H + b_{AOB} X_{AOB} + b_{NOB} X_{NOB}] \quad (II.31)$$

$$OUR_{H+NOB} = (1 - f_{xi})[b_H X_H + b_{NOB} X_{NOB}] \quad (II.32)$$

$$OUR_{H+AOB} = (1 - f_{xi})[b_H X_H + b_{AOB} X_{AOB}] \quad (II.33)$$

Ainsi, à partir des équations ci-dessus, et des coefficients du modèles ASM3 proposés par Henze *et al.* (2000) [189], il a été possible de quantifier les concentrations en bactéries hétérotrophes, AOB et NOB (Eq. II.34, II.35 et II.36).

$$X_H = \frac{OUR_{H+NOB} + OUR_{H+AOB} - OUR_{tot}}{(1 - f_{xi})b_H \times 1.42} \quad (II.34)$$

$$X_{AOB} = \frac{OUR_{tot} - OUR_{H+NOB}}{(1 - f_{xi})b_{AOB} \times 1.42} \quad (II.35)$$

$$X_{NOB} = \frac{OUR_{tot} - OUR_{H+AOB}}{(1 - f_{xi})b_{NOB} \times 1.42} \quad (II.36)$$

Avec :

OUR_{tot} = OUR endogène pour la biomass active totale (mgO₂/L/h)

OUR_{H+NOB} = OUR résultant de la respiration des hétérotrophes et des NOB (mgO₂/L/h)

OUR_{H+AOB} = OUR obtenu après ajout de ClO₃ (mgO₂/L/h)

f_{xi} = Fraction de COD inerte générée par la lyse de la biomasse (=0,2)

b_H = Coefficient de décès des bactéries hétérotrophes (=0,20 1/j)

b_{AOB} = Coefficient de décès des bactéries AOB (=0,15 1/j)

b_{NOB} = Coefficient de décès des bactéries NOB (=0,15 1/j)

X_H = Concentration en bactéries hétérotrophes (g/L)

X_{AOB} = Concentration en bactéries AOB (g/L)

X_{NOB} = Concentration en bactéries NOB (g/L)

7 Outils statistiques

7.1 Analyse par composantes principales

Dans le cas d'études où de nombreux paramètres peuvent être corrélés, comme pour les Bàm, l'analyse multivariée peut permettre de simplifier l'exploitation des données. L'Analyse par Composantes Principales, ou ACP (PCA, Principal Components Analysis), est un type d'analyse multivariée qui permet de compresser les variables d'études en un nombre plus petit de variables, appelées composantes principales. Ainsi, les variables associées aux paramètres étudiés (MVS, température, etc), sont représentées sous la forme de flèches dans un nouvel espace 2D, dont les axes correspondent aux deux premières composantes principales calculées.

La représentativité du nouvel espace 2D calculé peut être estimée à travers la variance totale représentée par les deux axes. Tandis que les corrélations entre les variables sont estimées par rapport aux critères suivants :

- Si l'angle entre les deux flèche est petit, il existe une corrélation forte entre les variables.
- Si les flèches sont opposées, il existe une corrélation négative entre les deux variables.
- Si les flèches forment un angle à 90° , il n'existe pas de corrélation entre les deux variables.

Pour réaliser les ACP, le package FactoMineR du logiciel RStudio[®], incluant une normalisation dans les paramètres par défaut, a été utilisé et le script est disponible en annexe ([Annexe C](#)).

7.2 Vérification de la validité des corrélations linéaires

Pour évaluer la valeur statistique des corrélations linéaires établies lors de cette étude, des corrélations de Pearson ont été calculées en utilisant l'outil statistique disponible sur Excel. Lorsque le coefficient de Pearson est positif, alors la corrélation est positive et inversement.

La corrélation est significative statistiquement pour une p-value $< 0,01$ et moyennement significative pour une p-value $< 0,1$ [81].

Chapitre III

Characteristics and fouling behavior of DOM fractions in a full-scale submerged MBR for municipal WWT

Objectifs et approches du Chapitre III

La taille et l'hydrophobicité des composés de la DOM présents dans le surnageant de bioréacteur à membrane sont des propriétés influençant majoritairement les phénomènes de colmatage (Chapitre I). Ces propriétés définissent les interactions composé/membrane, composé/biofilm et composé/composé, qui ont une influence majeure lors de la séparation membranaire. Néanmoins, peu d'études ont procédé au fractionnement par taille et par hydrophobicité de la DOM de surnageant de Bàm prélevé directement dans une station d'épuration à échelle industrielle. A notre connaissance, aucune de ces études n'a étudié les interactions possibles entre ces fractions, malgré leur impact potentiel lors de l'étape de filtration membranaire.

Ainsi, pour initier les travaux présentés dans ce manuscrit de thèse, une première étude, basée sur le fractionnement par taille et par hydrophobicité de la DOM prélevée dans un bassin membranaire de la station d'épuration de La Grande-Motte, a été réalisée. Le premier objectif était d'identifier les composés qui constituent les trois fractions isolées dans la DOM de surnageant de Bàm et de mettre en évidence leurs interactions avec la membrane, mais aussi entre eux, lors de la filtration membranaire. De plus, l'une des limites de l'étude du colmatage étant l'identification des espèces colmatantes en temps réel (Chapitre I), le second objectif de cette étude était de mettre en évidence des indicateurs pouvant être associés à ces fractions une fois leurs propriétés colmatantes déterminées. Cette étude a été réalisée en collaboration avec Benoit Teychené de l'IC2MP de l'Université de Poitiers.

Dans un premier temps, du surnageant de boues activées a été prélevé dans le bassin membranaire de la STEP de La Grande-Motte et préparé pour le fractionnement en suivant la procédure décrite dans le Chapitre II. Le fractionnement par dialyse et par résines XAD a quant à lui été réalisé à l'IC2MP, lors d'un séjour de deux semaines, pour utiliser le matériel qui était déjà en place et fonctionnel. Un protocole de filtration, incluant des étapes de lavages mécaniques, a ensuite été mis en place et appliqué sur les fractions isolées pour mettre en évidence leurs propriétés colmatantes et leurs liens respectifs avec la membrane. Pour étudier les interactions entre les fractions, celles-ci ont été mélangées, puis filtrées en suivant la même procédure que pour les fractions isolées.

Pour comprendre l'impact de la nature et de la taille de chaque fraction dans les méca-

nismes de colmatage, ainsi que pour mettre en évidence d'éventuels indicateurs de colmatage, celles-ci ont été caractérisées par différentes techniques analytiques : 3DEEM, LC-OCD et THM-GC/MS. LC-OCD et THM-GC/MS ont été réalisées par Benoit Teychené à l'IC2MP.

Characteristics and fouling behaviors of Dissolved Organic Matter (DOM) fractions in a full-scale submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment

Céline Jacquin¹, Benoît Teychené², Laurent Lemeé², Geoffroy Lesage¹, Marc Heran¹

¹IEM (Institut Européen des Membranes), UMR 5635 (CNRS-ENSCM-UM), Université de Montpellier, Place E. Bataillon, F- 34095, Montpellier, France.

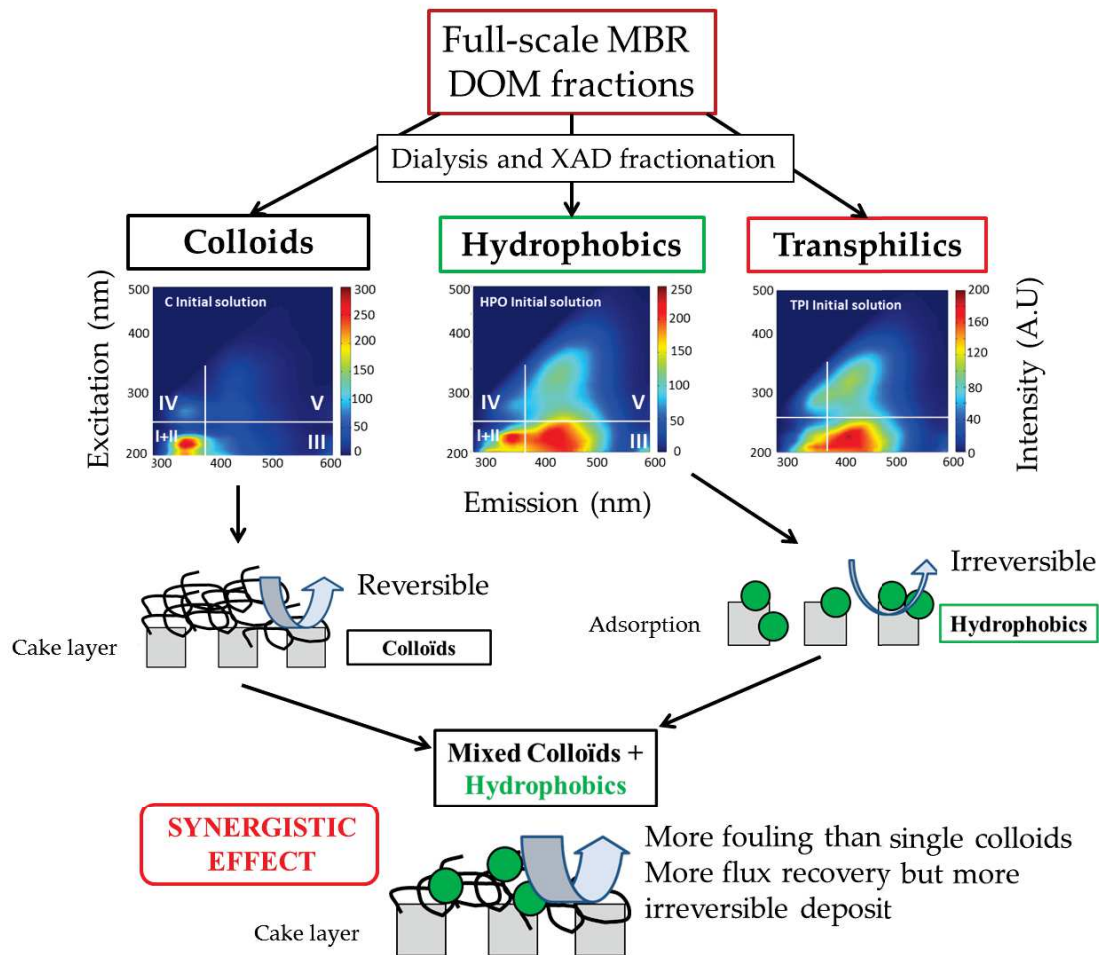
²Institut de Chimie des Milieux et Matériaux de Poitiers (IC2MP – UMR CNRS 7285), Université de Poitiers, Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Poitiers, 7 rue Marcel Doré, Bâtiment 16, TSA 41105, 86073 Poitiers Cedex 9, France.

Abstract

The purpose of this study was to investigate the fouling propensity of the bulk supernatant Dissolved Organic Matter (DOM) taken in a full-scale membrane bioreactor (MBR). In order to perform the investigations, the DOM was fractionated in terms of size and hydrophobicity, to give more precise information on the isolated fractions and to investigate their specific fouling mechanisms and interactions with the membrane barrier. Thus, DOM was split into three parts : Colloids (C), hydrophobic (HPO) and transphilic (TPI) fractions using XAD resins. These fractions were characterized using three dimensional excitation emission fluorescence spectroscopy (3DEEM), size exclusion chromatography coupled with organic carbon detection (LC-OCD) and double-shot thermo-chemolysis coupled with gas chromatography and mass spectrometry (THM-GC/MS). Then, fouling propensities and fouling reversibility of single and mixed fractions were evaluated throughout filtration tests. Results revealed a high proportion of protein materials in the Colloids fraction, while HPO and TPI fractions were mostly constituted of humic-like materials. Filtration tests emphasized the major role of Colloids in a reversible bio-cake formation, while HPO and TPI components lead to less fouling but stronger interaction with the membrane material (adsorption), resulting in higher irreversible fouling. Interestingly, filtrations of mixed fractions confirmed that physicochemical interactions between DOM fractions increase membrane fouling. However, higher efficiencies of cleaning procedures were observed on mixed foulant deposition, implying that DOM fouling could be partially controlled by air scouring or backwashing. These results help to further understand the DOM fouling mechanisms and the bulk fouling

propensity in order to define optimal fouling control strategies.

Graphical Abstract



1 Introduction

Due to the increase in water scarcity and population growth, the advanced treatment and recycling of wastewater are massive challenges in the 21st century [190], [31]. By achieving high nutrient removal efficiency and a complete biomass retention without a secondary clarifier, Membrane Biological Reactors (MBRs) are compact and suitable technologies to face these social and environmental issues. However, membrane fouling is one of the major drawbacks for their widespread application [22], [16]. During filtration, particulate materials (flocs, single bacteria) and Dissolved Organic Matter (DOM) tend to accumulate close to membrane surface leading to additive hydraulic transfer resistances. Particulate fouling

can easily be mitigated by controlling shear stress near the membrane (i.e, by promoting aeration scouring [191]). However, close to the membrane surface (in the boundary layer), air scouring induces weak shear stress, which has no impact on DOM removal leading to the formation of a thick dynamic membrane [21]. This dynamic membrane is then responsible for the modification of membrane surface properties promoting new foulant-foulant interactions. For example humic substance adsorption could facilitate hydrophilic biomolecule deposition due to stronger interactions, enhancing the need of membrane cleaning and decreasing membrane life time [65]. Thus, to further decrease MBR operating costs and to better control the MBR fouling phenomenon, a greater knowledge of DOM properties, interrelated interactions and interactions with membranes is required [16].

Some recent studies have focused on the impact of DOM from MBR supernatant on fouling mechanisms. Indeed, DOM has been described as a complex matrix constituted of heterogeneous molecules such as proteins, polysaccharides, humic and fulvic substances [59]. These DOM compounds come from the influent (Natural Organic Matter ; NOM) [28], or result from the mixed liquor active biomass activity (Soluble Microbial Products ; SMP) [75], [76]. Several studies have reported that the chemical composition of DOM plays a crucial role in foulant-membrane interactions [62]. Indeed, biopolymers, mainly constituted of high molecular weight (MW) polysaccharides and proteins, have been identified as major foulants, causing pore blocking or accumulation at the membrane surface [192], [118], [88], [115], [193]. Proteins are characterized by their stronger adsorption potential [92], while polysaccharides were found to be quantitatively dominant in the foulant layer [61], [127]. Other studies also highlighted that humic substances contribute to fouling, despite their low molecular weight [132]. However, there is no research consensus on these trends and better understanding of the interactions between fouling mechanisms is a relevant challenge [2], [194].

Two key factors play a major role during filtration : size or molecular weight of the foulant material and its hydrophobicity. If foulant size is the same order of magnitude as the membrane pore size, it will tend to partially or totally block the pores and subsequently form a cake or gel layer on the membrane surface [62]. Hydrophobicity is a fundamental property which determines the foulant/foulant and foulant/membrane interactions [126]. Generally, membrane manufacturers provide hydrophilic membrane materials (PVDF blended with

PVP) in order to reduce, as much as possible, organic matter/membrane interactions and thus reduce fouling [138]. However, due to the wide variety of organic matter molecules in the MBR mixed liquor, attractive interactions leading to membrane fouling might still occur.

It is therefore essential to develop methods for splitting DOM into fractions determined by size and hydrophobicity to go deeper into understanding fouling mechanisms. The adsorbent method (XAD resins) allows the separation of DOM based upon its hydrophobicity properties (hydrophobic, transphilic and hydrophilic fractions) [195], [179], [148]. Zheng *et al.* (2014) [53] added a dialysis step prior to XAD isolation allowing a separation of DOM based upon its molecular weight. Studies using this method were rarely applied on DOM taken directly from full-scale MBR bulk supernatant treating municipal wastewater [169], [113], [81], [126]. Moreover, beside the fractionation approaches, another important point in fouling mechanism investigation is the understanding of DOM fraction interactions during filtration (inter-foulant species interactions). This step is of practical interest to understand the later stage of filtration where foulant/foulant interactions (that take place between the fouling layer and the organic matter being filtered) mostly dominate fouling behaviors [65]. The synergistic effect of biopolymers and humic substances has been highlighted during the filtration of model molecules attesting that interactions between those entities can modify their respective fouling propensities [65], [196], [197], [92]. Using fluorescence quenching, Wang *et al.* (2015) [107] highlighted the binding capability between protein-like and humic-like substances, which could explain the synergistic effect observed during the filtration of mixed biopolymers and humic substances. However, to the authors' knowledge, no studies have focused on the interactions between the different classes of full-scale MBR DOM molecules, extracted using XAD resins, and their resulting impact on membrane fouling during filtration.

The following study aimed to investigate fouling mechanisms of isolated DOM fractions extracted from a municipal full-scale MBR mixed liquor supernatant. DOM fractions, named Colloids (C), hydrophobic (HPO) and transphilic (TPI) fractions, were isolated and characterized in terms of size and nature, using advanced methods; three dimensional excitation emission fluorescence matrix (3DEEM), liquid chromatography coupled with organic carbon detector (LC-OCD) and double-shot thermo-chemolysis coupled with gas chromatography and mass spectrometry (THM-GC/MS). The latter was used to quantitatively cha-

racterize functional groups from organic material depending on their nature (biodegradable and refractory), that was never used for DOM characterization in real wastewater [186]. Then, to reveal the role of foulant-membrane interactions, each fraction and mixed fractions were filtered separately through dead-end filtration tests. In addition, to further understand the fouling propensities of DOM classes, mechanical cleaning steps were performed to characterize fouling reversibility and irreversibility associated with isolated and mixed fractions.

2 Material and methods

2.1 DOM sampling and collection

250L of activated sludge (AS) from the MBR tank and 1L of permeate (P) were sampled directly in a large-scale MBR treating municipal wastewater (mean flow rate of between 2500 to 5000m³/d according to the season) located in the Montpellier area and nitrification/denitrification and dephosphatation steps were performed (III.1).

Table III.1 – Operational conditions during sampling campaigns

Permeate flux (L/h/m ²)	HRT (d)	SRT (d)	MLSS (g/L)	MLVSS (g/L)
25	2.9 ± 0.1	100 ± 24	9.1 ± 3.1	7.0 ± 2.5

The MBR was equipped with a flat sheet microfiltration membrane unit (KUBOTA Submerged Membrane Unit®, SMU, KUBOTA, Japan), made of chlorinated polyethylene, with an average pore size of 0.2µm and an effective membrane area of 16 240m². Two sampling campaigns were done in May and June 2015, where no seasonal variations affected the WWTP operations. DOM characterization and filtration tests were then performed in duplicate for each campaign. Since the variability of the filtration and characterization results obtained for the two campaigns was very low (standard error between 1 and 9% on flux reduction experiments), all the results presented in this paper correspond to the average of all the tests performed (n=4).

Prior to DOM isolation, 250L of AS collected in the MBR tank were pre-filtered through a 50µm filter to shorten the separation step. Then, the pre-filtered AS were filtered through a 2µm polypropylene filter, to collect bulk supernatant (BS) containing the DOM (i.e colloidal and dissolved organic matter). The BS samples were then softened and concentrated by a factor of 100 (to obtain a final sample volume of 2.5L) following the procedure described in

Pernet-Coudrier *et al.* (2008) [148]. Reverse osmosis (RO) step sample concentration was performed in a closed loop with low recovery ratio (< 10%) using a Filmtec TW30 (polyamide) membrane identified as less sensitive to organic matter adsorption [178]. A maximum of 20bar was applied until the concentration increased by a factor of 100. During the TOC of RO permeate was monitored confirming that no leakage had been observed (the TOC of the permeate was always below 0.1mgC/L).

2.2 DOM isolation

Colloid fraction (C) was isolated from BS using dialysis bags (3.5kDa, Spectra/Por 6 Dialysis Membrane, Spectrum Lab, USA) against HCl (0.01mol/L, pH = 2, HCl 37%, VWR Chemicals, UK) in order to dissolve fulvic acids [179] and allow the transfer of low MW compounds by osmotic gradient [53]. Colloids were purified after removing potentially precipitated silica and salts (dialysis against 0.2mol/L HF and pure water respectively for 48h), and finally freeze-dried. The dialysate solution (consisting of the dissolved organic matter) was then passed through XAD-8 and XAD-4 resins (Amberlite, Sigma Aldrich Co., USA) arranged in tandem to isolate hydrophobic (HPO) and transphilic (TPI) fractions, respectively [195], [94]. Finally, HPO and TPI were eluted from XAD-8 and XAD-4 resins respectively, with an acetonitrile/MilliQ water solution (75%/25%, v/v), and further evaporated and freeze-dried.

The hydrophilic (HPI) fraction, in the resin effluent, was not considered in this study because it is subject to co-precipitation with ions present in high concentration. As a consequence characterization techniques used in this paper and freeze drying could not be applied to this fraction [148].

2.3 Liquid sample and isolate fraction characterization

2.3.1 Isolated and mixed fractions preparation

Freeze-dried fractions were used to prepare isolate and mixed fractions [53]. The reconstituted DOM solutions (III.2) were adjusted in MilliQ water buffered with 1mmol/L NaHCO₃ (purity \geq 99%, Sigma Aldrich, USA) in order to reach 1 mgC/L for all isolated and mixed fraction solutions. A buffer without bivalent cations was used to study proper DOM fractions interactions, since some of them can play a role in fouling mechanisms such as Ca²⁺ [65], [16].

Table III.2 – DOM mixed solutions composition

DOM Mixtures	C content (mgC/L)	HPO Content (mgC/L)	TPI content (mgC/L)
C+HPO	0.3	0.7	-
C+TPI	0.3	-	0.7
HPO+TPI	-	0.5	0.5
C+HPO+TPI	0.3	0.35	0.35

2.3.2 TOC, UV₂₅₄ and SUVA₂₅₄

TOC analysis was performed using a TOC-VCSN Shimadzu analyzer (Shimadzu Japan). Specific UV absorbance (SUVA₂₅₄) was calculated as the ratio of UV₂₅₄ absorbance, measured in a 1cm quartz cuvette using a UV-VIS spectrophotometer (UV-2401PC, Shimadzu, Japan), and TOC value [85].

2.3.3 3DEEM

3DEEM spectra were obtained by using a Perkin-Elmer LS-55 spectrometer (USA) after sample filtration (2µm filter). Scan ranges were set at 200-500 nm and 280-600nm in excitation and emission respectively [3]. Scan speed was fixed to 1500nm/min and the increment at 10nm, while slit width was fixed at 10nm in excitation and emission [182]. All spectra were normalized by MilliQ water blank spectra [184]. Then, according to Chen *et al.* (2003) [3], spectra were divided into four areas : Region I+II corresponded to aromatic protein-like fluorophores (tyrosine) ranging from Ex = 200-250nm/Em = 280-380nm, Region III was associated to fulvic acid-like fluorophores (Ex = 200-250nm/Em = 380-600nm), Region IV and V corresponded to proteins mainly derived from soluble microbial product fluorophores (tryptophane) (Ex = 250-350nm/Em = 280-380nm) and humic acid-like fluorophores and their hydrolysates (Ex = 380-600nm/Em = 250-500nm), respectively.

2.3.4 Liquid Chromatography Organic carbon detection (LC-OCD)

DOM fractions were also characterized in terms of size using size exclusion chromatography with organic carbon detection [198], [5]. The silica based column used for organic separation was a ReproSil 200s (AIT, France, pore size 200Å) with a MW separation range for proteins from 10 to 500kDa (3 to 10nm, Eq. III.1). To estimate the correspondence between molecular weight and size in nm, Eq. III.1 was used [199].

$$R_{min} = 0.066MW^{1/3} \quad (III.1)$$

Where R_{min} is the minimum radius of a molecule in nm and MW is its molecular weight in Da.

The eluent flow was set at 1mL/min and consisted of a 10mM sodium phosphate solution at pH = 7. This analytical method was applied to single and mixed fractions dissolved in a NaHCO₃ buffer and the sludge supernatant at a fixed concentration of 1mgC/L.

2.3.5 Double-shot thermochemolysis (THM-GC/MS)

Thermochemolysis was done using tetramethyl ammonium hydroxide (TMAH) as an alkylating agent. The injector temperature was set at 250°C. The pyrolyzer was a Frontier Lab EGA 2020 pyrolyzer equipped with an AS-1020E auto-shot sampler coupled with GCMS (Shimadzu QP 2010 Ultra). 0.5mg of DOM fractions were mixed with 5µL of TMAH methanolic solution 50/50 (v/v) in methanol and then placed in a stainless steel cup. Double-shot thermochemolysis consists of two successive pyrolysis steps on the same sample. The first shot was a thermodesorbition with in situ methylation, from 100°C to 350°C with a temperature increase of 5 °C/min. The second shot was a pyrolysis in isothermal mode during 1 min at 600°C on the sample having undergone the first shot. Between the 2 shots, the sample was maintained in a cooled zone of the pyrolyzer [186].

A capillary column (30m length, 0.25mm internal diameter, 0.25µm phase thickness) was used for GC separations. Column temperature was increased from 50 to 300°C at a rate of 5°C/min and then kept at 300°C for 9min. The detector was a quadrupolar mass spectrometer. The ionization mode was electron impact (70eV) and the source temperature was 220°C. The organic compounds were identified on the basis of their GC retention times and by comparison of their mass spectra with standards and library data of the National Institute of Standards and Technology (NIST).

2.4 Membrane filtration tests

Flat sheet polyvinylidene fluoride blended with polyvinylpyrrolidone (PVDF/PVP) membranes, with a pore size of 0.1 µm, were purchased from Orelis (France). Those membranes were chosen to allow literature comparison since PVDF material are often used for mem-

brane filtration tests and are extensively used at industrial scale [169]. Prior to the filtration tests, every membrane was soaked in MilliQ water for at least 24 hours to rinse out the preservatives. Permeability was estimated by successive MilliQ water filtration at 0.2, 0.5, 0.7 and 1bar. In order to assure good repeatability of the filtration results, all membranes exhibiting pure water flux outside of the range 818 ± 223 L/h/m²/bar (T = 20°C) were discarded.

The filtration protocol, including cleaning steps, described in Table III.3 was then used to estimate single and mixed fractions fouling propensities.

Table III.3 – Dead-end filtration protocols

	Filtration of single and mixed fractions	Cleaning by relaxation (RL)	Filtration after RL	Cleaning by backwashing (BW) after RL	Filtration after RL and BW
Objective	Evaluate fouling propensities of single and mixed fractions	Remove foulants by simulating a membrane RL	Evaluate remaining fouling after a RL step	Remove foulants by simulating a membrane BW	Evaluate remaining fouling after RL and BWS steps (irreversible fouling)
Filtered solution	Single and mixed fraction (1mgC/L) at 0.5bar	-	Buffer solution at 0.5 bar	Buffer solution at 0.5 bar	Buffer solution at 0.5 bar
Volume (mL)	280	-	40	30	30
Cleaning procedure	-	Cell refilled with 15mL of buffer solution, stirred for 10 min at 100 rpm	-	Membrane reversed upside down in the filtration cell	-

Darcy law was used to calculate the normalized flux (J/J_0), where J is the flux measured during the filtration (m³/m²/s) and J_0 is the clean membrane flux (m³/m²/s). Then flux reduction and flux recoveries were calculated after each cleaning step using Eq. III.2 and Eq. III.3.

$$Flux_{reduction} (\%) = \left(1 - \frac{J}{J_0}\right) \times 100 \quad (III.2)$$

$$Flux_{recovery} (\%) = \left(\left(\frac{J}{J_0}\right)_n - \left(\frac{J}{J_0}\right)_{n-1}\right) \times 100 \quad (III.3)$$

Where $(J/J_0)_n$ and $(J/J_0)_{n-1}$ are the normalized flux values obtained after the studied cleaning step (n) and the normalized flux values obtained before the cleaning step (n-1) at a filtered volume of 200 L/m², respectively.

In order to investigate inter-foulant effects (additive, antagonist or synergistic) between

DOM fractions during mixed suspension filtration, the resistances in series model (RIS) was applied. To do so, specific resistances (α) from all filtration experiments (single and mixed fractions) were calculated using Eq. III.4 in the linear part of the $t/V=f(V)$ as shown in supplementary data (Figure II.11) [200].

$$\frac{t}{V} = \frac{\mu(20^{\circ}\text{C}) \times \alpha \times S}{2 \times A^2 \times \Delta P} \times V + \frac{\mu_{20^{\circ}\text{C}} R_m}{A \times \Delta P} \quad (\text{III.4})$$

With t the time in seconds, V the volume in m^3 , $\mu(20^{\circ}\text{C})$ the solution viscosity at 20°C in $\text{Pa}\cdot\text{s}$, R_m membrane resistance in $1/\text{m}$, α the specific resistance in m/kg and S the initial concentration of the isolated fraction or the mixed fractions solutions in kg/m^3 , A represents the membrane surface in m^2 and P the pressure in Pa . With α value it was then possible to calculate fouling resistance (R_f) using Eq. III.5 for all filtration experiments (single and mixed fractions).

$$R_f = \frac{\alpha \times S \times V}{A} \quad (\text{III.5})$$

With :

R_f = Fouling resistance ($1/\text{m}$)

α = Specific resistance (m/kg)

S = Fraction concentration (mgC/L)

V = Filtered volume (L)

A = Membrane surface (m^2)

2.5 Scanning electron microscopy (SEM) for membrane analysis

In order to compare SEM analysis, membranes were observed before and after filtering 280 mL of DOM fraction solutions ($1 \text{ mgC}/\text{L}$). Membrane samples were then cut out, dried and coated with platinum before SEM analysis with Hitachi S-4500 apparatus (Japan), under a tension of $0.5 - 30 \text{ kV}$.

3 Results and discussion

3.1 DOM characteristics

3.1.1 DOM in MBR bulk supernatant (BS) and permeate (P)

As shown in Table III.4, DOM in BS samples showed a classic UV_{254} absorbance value commonly observed for secondary effluent [118], [201]. During the MBR filtration operation, some aromatic molecules were retained by the Kubota membranes since the UV_{254} absorbance decreases by about 30% in the permeate sample. Similarly, the TOC value was lower by about 25% in the permeate compared to the bulk supernatant of activated sludge. This probably corresponds to DOM having a higher molecular weight than the membrane molecular weight cut-off.

Table III.4 – UV_{254} absorbance, TOC concentration and $SUVA_{254}$ of the bulk supernatant (BS) and permeate (P) samples

Raw samples	Absorbance UV_{254} (1/m)	TOC (mgC/L)	$SUVA_{254}$ (L/mgC/m)
BS*	28	9.9	2.6
P**	19	7.4	2.6

*Organic Matter lower than $2\mu\text{m}$; **Organic Matter lower than $0.2\mu\text{m}$

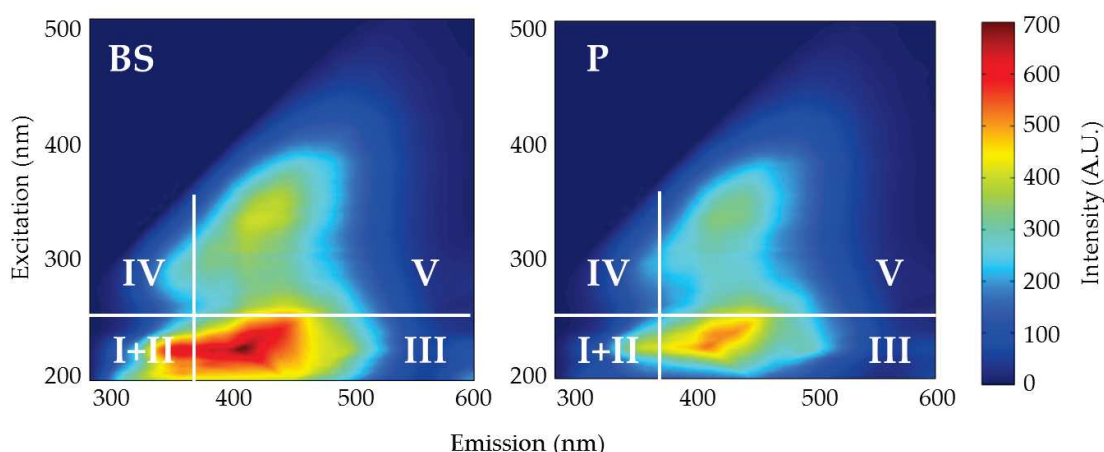


Figure III.1 – 3DEEM Fluorescence spectra of bulk supernatant (BS) and permeate (P) samples

3DEEM spectra presented in Figure III.1, demonstrate that BS samples are constituted of fluorescent molecules located in the protein-like and SMP-like regions (zones I+II and IV), as well as in the fulvic-like and humic-like substance regions (zones III and V) [64], [62]. As shown in Figure III.1, it is confirmed that the membrane filtration operation reduced

the concentration of fluorescent molecules, especially protein-like and SMP-like substances, which is probably due to their size. Fulvic-like and humic-like substances are therefore predominant in the permeate sample. This is consistent with previous studies that identified these molecules as the major foulants in MBR supernatant [118], [62].

3.1.2 DOM fractions

After DOM isolation from real MBR mixed liquor, THM-GC/MS was performed on the powder extract of the three DOM fractions : C, HPO and TPI. The temperatures of the two shots of THM-GCMS were set according to Collard *et al.* (2015) [186]. The first shot (Table B.1 in supplementary data), which is a thermodesorption and was performed from 100 to 350 °C with in-situ methylation, gives structural information concerning the named “soluble” fraction according to the International Humic Substance Society (IHSS). This fraction consists of unaltered materials, fresh debris or non-transformed components from older debris according to Hayes and Swift (1978)[202]. The second shot was performed at 600 °C on the sample which had undergone the first shot and provides data (Table B.2 in supplementary data) on the molecular composition of the named “insoluble” fraction of OM according to the IHSS (e.g transformed or humified components consisting of humic-like compounds and non humics ; polypeptides and polysaccharides).

As reported in Table III.5 :

- Compounds released at 350°C (Figure B.1 in supplementary data) and at 600 °C (Figure B.2 in supplementary data) from all fractions were mainly aliphatic and aromatic, respectively.
- Nitrogen containing compounds, mainly corresponding to proteins or protein-like substances were mostly found in Colloids (39% and 32% at 350 and 600°C respectively), but not detected in HPO fractions and were found at low concentrations in TPI fractions (18 and 5%, respectively)
- Furans, probably originating from cellulose were only observed for Colloids and in low amounts.
- Phosphorous compounds were only thermodesorbed at 350°C from Colloids and prove the presence of colloid-associated phosphorous in the “soluble” fraction of DOM Colloids.
- Aromatic compounds were found in the HPO fraction, corroborating the hydrophobic nature of this DOM fraction.

- TPI consists of aliphatic and aromatic compounds with amide moieties relevant to the transphilic nature of such OM. This fraction, eluted from XAD-4, is usually associated with carbohydrates and biological peptide molecules [203].

Table III.5 – Relative percentages of the 5 classes of compounds identified in the 3 samples at 350 and 600°C

Class of compounds	C 350°C	C 600°C	HPO 350°C	HPO 600°C	TPI 350°C	TPI 600°C
Aliphatic	31	3	55	-	82	11
Nitrogen	39	32	-	-	18	5
Aromatic	10	62	45	100	-	84
Furanic	5	3	-	-	-	-
Phosphorous	15	-	-	-	-	-

A depth analysis of THM-GC/MS results given in Figure B.1, Figure B.2, Table B.1 and Table B.2 (supplementary data), shows that :

- Among aliphatic compounds, fatty acids were released at 350°C in the range C10 to C19. Total fatty acids represent 16% of the compounds released for Colloids, 37% for HPO and 53% for TPI. The ubiquitous palmitic (C16) and stearic (C18) acids are major components of the three investigated fractions. Surprisingly, the branched C15 fatty acid of bacterial origin was detected in small amounts in Colloids (Table B.1 supplementary data). Diacids, which were minor components in Colloids (1%), represented 17 and 26 % of the compounds released at 350°C respectively for HPO and TPI. A derivative of phosphoric acid was detected within the compounds released in the first shot of Colloids.
- Pyrograms from the second shot (Figure B.2 and Table B.2) show that substituted benzenes represented 62, 66 and 66% of the pyrolysis products at 600°C of Colloids, HPO and TPI, respectively.
- Polyaromatic hydrocarbons (substituted naphthalenes and indene) were not detected for Colloids and represented respectively 28 and 17% for HPO and TPI.
- Substituted biphenyls were observed in small quantities (4%) for HPO.

To conclude, the THM-GCMS of the DOM powder extract revealed that the TPI fraction mainly consists of aliphatic compounds and HPO consists of polyaromatic hydrocarbons corroborating their hydrophobic nature. Finally, Colloids were mainly constituted of nitrogen aliphatic and aromatic compounds.

In addition to THM-GC/MS analysis, 3DEEM analyses were performed on every DOM

fraction (Figure III.2). 3DEEM gives complementary information on the DOM structures found in the three fractions.

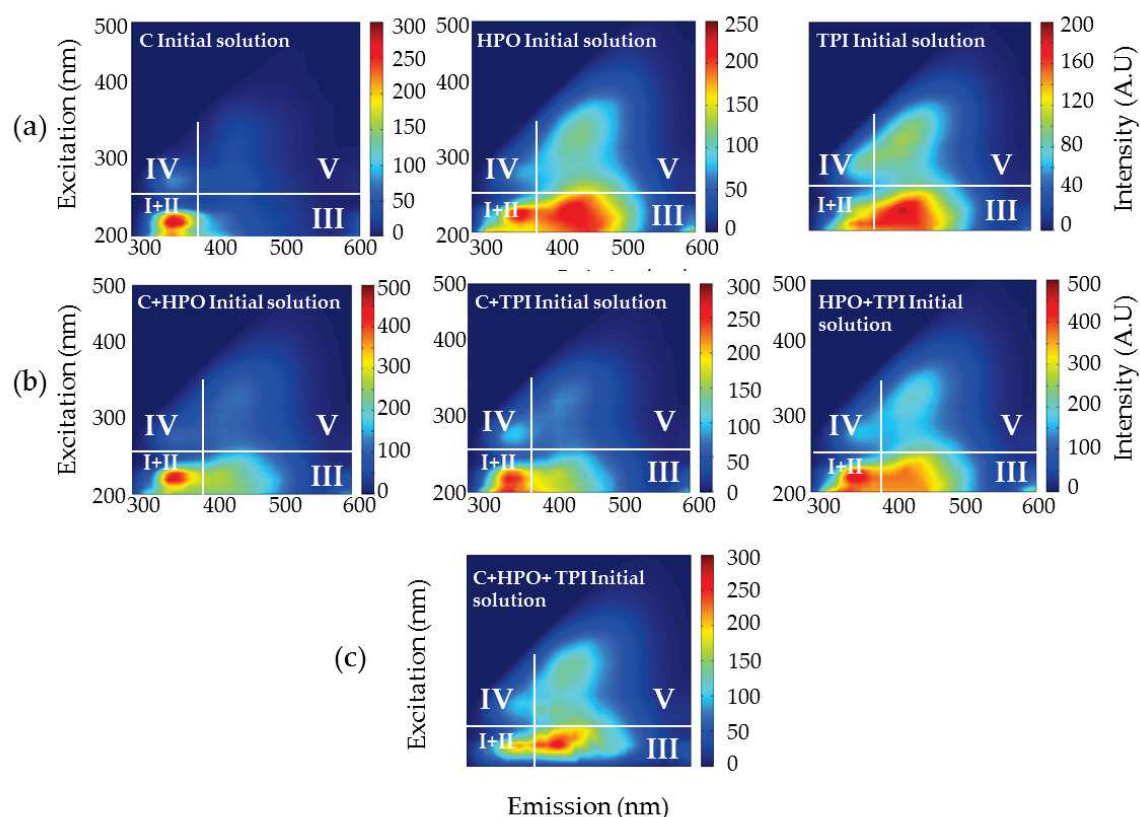


Figure III.2 – Fluorescence spectra of (a) single fractions (C, HPO and TPI) and (b) mixed fractions (C+HPO, C+TPI, HPO+TPI and C+HPO+TPI). I+II, III, IV and V regions correspond to protein-like, fulvic-like, SMP-like and humic-like regions, respectively (the scale shown is in arbitrary unit)

Figure III.2 shows the 3DEEM spectra of the single and mixed fractions with an adapted scale to better observe their respective nature. Colloids (C) fraction obtained by dialysis consists in protein-like substances [53]. The HPO fraction is mainly constituted of protein-like, humic and, to a lesser extent, fulvic-like molecules. The TPI fraction might be considered as a mix of SMP-like, protein-like and humic substances, but with a majority of fulvic-like substances.

As shown in Figure III.3a, the HPO and TPI fractions exhibited similar separation exclusion chromatograms. Only one chromatographic band was obtained for an elution time of approximately 10 minutes, related to a molecular weight lower than 1kDa or 1nm (according to column specification). In contrast, the Colloids fraction (C) revealed a small peak centered at around 4min confirming the presence of large molecules with a molecular weight higher than 100kDa or 6nm. The Colloids fraction is also characterized by a peak corresponding to an elution time of 11min, probably associated with dissociation by-products from proteins

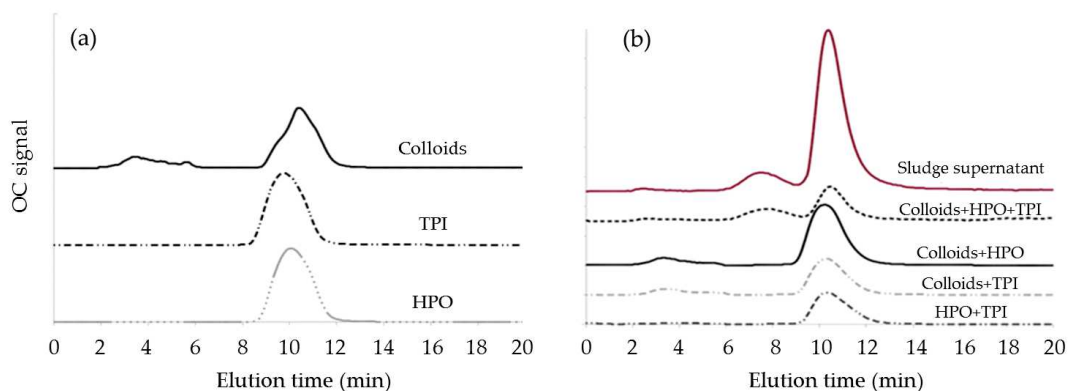


Figure III.3 – LC-OCD results performed on (a) isolated fractions (C, HPO, TPI) and (b) mixed fractions (C+HPO, C+TPI, HPO+TPI, C+HPO+TPI and sludge supernatant)

and polysaccharides transformation (peptides and oligosaccharides) as already observed thanks in the THM-GC/MS analysis and corresponding to results found in the literature [28], [53]. Global DOM characterization results are listed in Table III.6.

Table III.6 – Characterization results for the three DOM fractions (C, HPO and TPI)

Fraction	Hydrophilicity	3DEEM	SEC-OCD	THM-GC/MS
C	Hydrophilic	Protein-like	Large and low MW (>100kDa & 1kDa)	Aromatic and aliphatic nitrogen based compounds
HPO	Hydrophobic	Protein-like, humic and fulvic-like	Low molecular weight (1kDa)	Polyaromatic hydrocarbon based compounds
TPI	Transphilic	Majority of fulvic-like with SMP-like, protein-like and humic-like	Low molecular weight (1kDa)	Aliphatic compounds

3.1.3 Mixed DOM fractions

Figure III.2b and Figure III.2c show the 3DEEM footprint of mixed fractions. The trace of each fraction is visible in the spectra, confirming that no overlapping occurs (quenching effect). Hence, C+HPO is mainly constituted of hydrophilic protein-like and hydrophobic protein-like and humic-like substances. C+TPI exhibits hydrophilic protein-like and transphilic humic and fulvic-like signals. HPO+TPI is constituted of hydrophobic protein-like and fulvic and humic-like combined with transphilic fulvic and humic-like substances. Moreover, the C+HPO+TPI 3DEEM spectrum corresponds to the mix expected between the different constituents of C, HPO and TPI. The spectrum of the mix of three fractions shows the same pattern as the one obtained for BS (Figure III.1). The same observation can be

made while comparing the C+HPO+TPI mix and sludge supernatant LC-OCD chromatograms (Figure III.3b), confirming the relevancy and efficiency of the fractionation and re-constitution techniques. Mixed fractions chromatograms did not reveal size differences with single fractions, implying that no aggregation occurred between the fractions, except for C+HPO+TPI mix presenting a new peak at 8min. Hence, in the sludge supernatant, the presence of C, HPO and TPI fractions led to aggregation phenomena. This characteristic could impact membrane fouling and foulant-membrane interactions.

3.2 Investigation of fouling mechanisms of DOM fractions

3.2.1 DOM fractions filtration

Filtration tests were performed in quadruplicate using DOM fractions alone or mixed to evaluate their fouling potential. After single fractions filtration, clean membrane surfaces were compared to fouled membrane surfaces using SEM. Images are visible on Figure III.4.

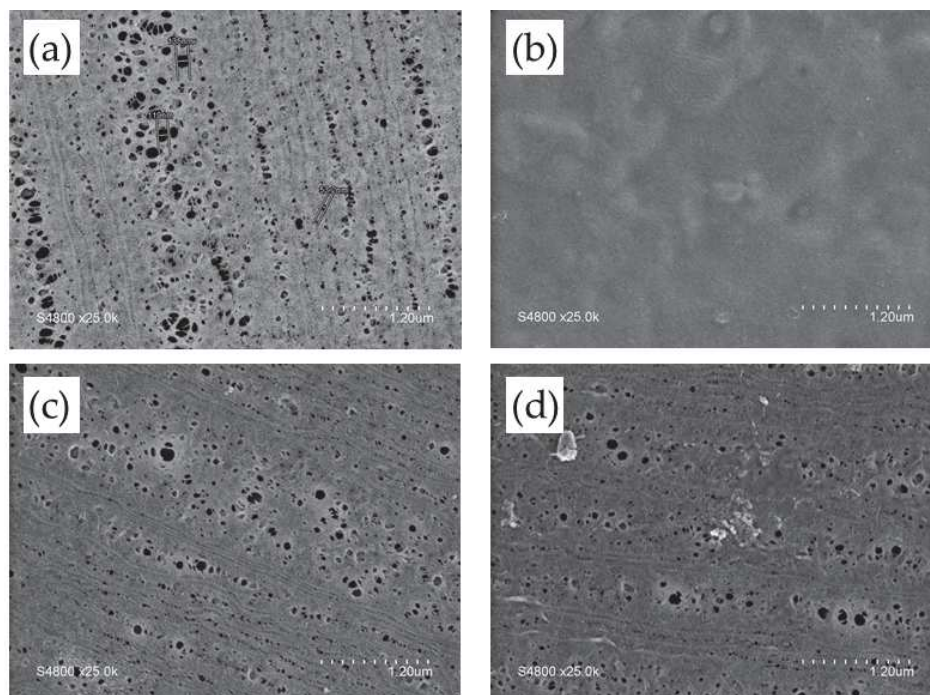


Figure III.4 – SEM images of a) clean membrane, b) Colloids fraction (C), c) HPO and d) TPI fouled membranes

When observing the clean membrane surface, a wide pore size distribution can be highlighted (Figure III.4a). Indeed, large pores around 100nm and pores around 10nm are visible. Concerning Colloids, the SEM image shows homogenous covered surface, probably corresponding to bio-cake or gel layer fouling, since no pores are visible anymore (Figure III.4b). Hence, Colloids should play a major role in fouling phenomena by causing cake fouling.

On the contrary, no cake layer is visible for HPO and TPI fouled membranes (Figure III.4c and Figure III.4d). However, the surface appearance had changed compared to the cleaned membrane, with darker surface and bright areas around the pores. Hydrophobic compounds present in the HPO and TPI fractions probably adsorb onto the membrane surface, modifying membrane surface properties. Likewise, fewer pores are visible in Figure III.4c and Figure III.4d, implying that HPO and TPI fractions probably lead to standard blocking phenomena [65], [169]. To further understand these observations, membrane flux evolution with time was studied in Figure III.5.

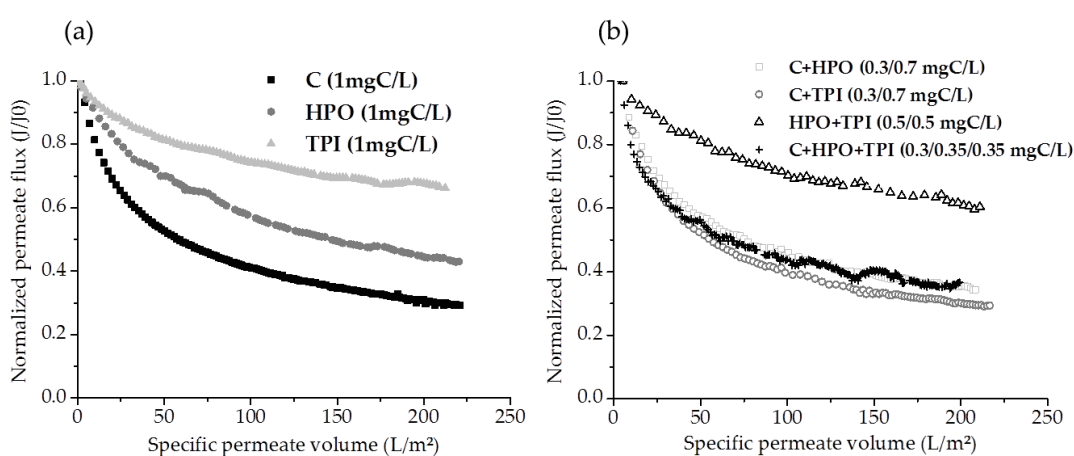


Figure III.5 – Normalized flux against specific permeate volume during filtration of (a) colloids (C), hydrophobic (HPO) and transphilic (TPI) fractions and (b) mixed fractions C+HPO, C+TPI, HPO+TPI and C+HPO+TPI for a constant TOC concentration of 1mgC/L

As expected, Colloids play a major role in the fouling phenomena due to their size (higher than 100kDa) and their proteinic nature observed thanks to 3DEEM and THM-GC/MS (Table III.6) [109]. As reported in Figure III.5a and Table III.6, the Colloids fraction generated around $67 \pm 3\%$ of flux reduction for a given filtered volume of 200L/m². The flux reduction curve associated with the Colloids filtration, shows a sharp fall at the very beginning (filtered volume lower than 25L/m²), followed by a smoother slope. This tendency is typical to initial pore blocking and cake formation on membrane surface in later phase of the filtration, occurring when filtering molecules are larger than membrane pore cut-off size [65], [204], [126]. Hence, this result confirms SEM observations (Figure III.4b). Even if their size is much lower than the membrane pore size, the HPO and TPI fractions present fouling propensities while considered alone (Figure III.5a and Table III.7). This is consistent with other studies that identified HPO and TPI fractions as responsible for standard pore blocking mechanism due to their small molecular size and capacity for foulant-membrane

and inter-foulant interactions [41], [53].

The HPO fraction presents higher fouling propensities than TPI with a mean flux reduction of $51 \pm 4\%$ and $38 \pm 9\%$, respectively for a filtered volume of $200\text{L}/\text{m}^2$ (Figure III.5a and Table III.7). This observation could be due to the hydrophobic character of the HPO fraction (mainly consisting of polyaromatic compounds) which could lead to stronger interactions with the hydrophobic polymeric membrane (PVDF) [132]. Moreover, the HPO are mostly constituted of aromatic fulvic and humic-like substances that are known to form supramolecular associations through dispersive forces such as hydrophobic forces (Van der Waals, π - π) and hydrogen bridges [135]. This could happen during filtration where molecules are increasingly concentrated near the membrane surface and where those supramolecular associations interact with the membrane and can contribute to pore blocking. Concerning TPI, they generated less flux reduction due to their combined nature (transphilic). They are consequently less subject to adsorption than HPO. Finally, fouling propensities of the investigated fractions might be classified as follows : $C > \text{HPO} > \text{TPI}$ which is in accordance with other studies [143].

Results from mixed fractions filtration tests confirm that mixing fractions impacts fouling mechanisms since C+HPO, C+TPI and C+HPO+TPI present important flux reductions equal to $67 \pm 1\%$, $70 \pm 3\%$ and $63 \pm 1\%$, respectively, at a filtered volume of $200\text{L}/\text{m}^2$. Despite its lower Colloids concentration ($0.3\text{mgC}/\text{L}$), the filterability of the three fraction mix (C+HPO+TPI) was found to be similar to the mix of two fractions containing Colloids (C+HPO and C+TPI, with $0.5\text{mgC}/\text{L}$ each) and to the single Colloids suspension ($1\text{mg C}/\text{L}$). (Figure III.5, Table III.2) The same observation can be made for the HPO+TPI mix, presenting flux reduction equal to 37% , at a filtered volume of $200\text{L}/\text{m}^2$, which is really close to the one observed for TPI alone (Figure III.5a and Table III.7). This suggests that interactions take place between the mixed fractions during filtration and modify DOM fouling behavior. These results are in accordance with the study of Jermann *et al.* (2007) [65] which established a fouling model from the results of mixed alginate and humic acids, where both substances interact together to form a more complex fouling layer associated with a synergistic effect.

3.2.2 Resistances in series model

In order to rationalize the fouling mechanisms during mixed fraction filtration, mixed fractions fouling resistances (R_f), calculated using Eq. III.5 were compared to the resistance obtained with the resistances in series model (R_{RIS}). The RIS model states that each fraction will generate independent resistances and the total resistance is the sum of these independent resistances.

Table III.7 – Single and mixed fractions filtration resistance (R_f) and their associated flux reduction after 200L/m² filtration compared with the resistance calculated with the resistances in series model (R_{RIS})

Fractions	Flux reduction (%)	α (m/kg) $\times 10^{15}$	R_f (1/m) $\times 10^{11}$	R_{RIS} calculated from single fraction's specific resistance (1/m) $\times 10^{11}$	Synergistic effect (% difference between R_f and R_{RIS})
C	67 ± 1	9.4 ± 0.9	19.6 ± 1.8	-	-
HPO	51 ± 4	2.2 ± 0.4	4.5 ± 0.8	-	-
TPI	38 ± 9	1.5 ± 0.7	3.1 ± 1.4	-	-
C+HPO	67 ± 1	4.9 ± 0.2	10.2 ± 0.5	9.1 ± 1.2	+13
C+TPI	70 ± 3	4.9 ± 0.7	10.2 ± 0.2	8.1 ± 1.5	+27
HPO+TPI	37 ± 1	1.3 ± 0.2	2.6 ± 0.4	3.9 ± 1.0	-30
C+HPO+TPI	63 ± 1	5.6 ± 0.2	11.6 ± 0.3	8.6 ± 0.7	+35

As indicated in Table III.7, during C+HPO and C+TPI filtration, the RIS model gives lower resistance values than experimentally observed ($9.1 \cdot 10^{11}$ and $8.1 \cdot 10^{11}$ 1/m, respectively) with positive differences between R_f and R_{RIS} of 13% and 27%, respectively. These results suggest that cake layer (Colloids) and standard blocking (HPO and TPI) mechanisms do not occur independently and the fractions generate a synergistic effect towards membrane fouling. Interactions within the fouling layer between TPI or HPO and the deposited colloid compounds probably took place, decreasing cake layer porosity. Indeed, humic substances are known to adsorb onto other types of compounds (polysaccharides, proteins), through hydrophobic and electrostatic interactions [16]. The same observation can be made for the C+HPO+TPI mix, with a higher synergistic effect than C+TPI and C+HPO (35%). This result is in accordance with LC-OCD results where aggregates were identified (Figure III.3b). In contrast, the HPO+TPI mix produced an antagonist effect with a lower experimental resistance than the R_{RIS} (negative difference of 30%). This might be explained by interactions between the aromatic compounds in HPO and TPI (inter-foulant interactions). Their relative interactions with the membrane are then limited, despite their respective tendency to generate standard blocking and higher HPO-HPO than HPO-TPI interactions highlighted

by Miao *et al.* (2014) [143]. Hence, inter-foulant interactions play a major role in fouling mechanisms, since the HPO+TPI antagonist effect did not occur in the C+HPO+TPI mix, where the maximum synergistic effect was observed. Regarding practical implications in full scale MBR, these results suggest that beside the important role of macromolecular protein like substances (Colloids) in fouling, the proportion of low molecular weight OM that might interact with it is also an important factor and should be taken more into consideration regarding fouling understanding in MBR. Indeed, interactions, besides impacting cake layer porosity, could impact foulant-membrane interactions during MBR cleaning procedures.

3.3 Membrane interactions through cleaning procedures

After the filtration run, cleaning steps were performed as described in section 2.4 (Table III.3). The flux recoveries obtained from the different cleaning strategies are reported in Table III.8.

Table III.8 – Flux recovery and resistances after cleaning steps

Fractions	Flux recovery after relaxation (%)	Flux recovery after backwashing (%)	Total recovery (%)
C	12 ± 3	23 ± 2	35
HPO	14 ± 2	6 ± 1	20
TPI	2 ± 1	7 ± 2	9
C+HPO	31 ± 4	13 ± 1	44
C+TPI	25 ± 4	13 ± 2	38
HPO+TPI	13 ± 1	8 ± 1	21
C+HPO+TPI	25 ± 3	1 ± 1	26

Colloid fraction induced mainly reversible fouling with 12% of recovery thanks to relaxation and 23% for backwashing, ensuring an effective flux recovery of up to 35%. Practically, the Colloids cake layer is mostly removed by the backwashing step [205]. Thus, air scouring can help to maintain membrane permeability, but punctual backwashing is required. HPO fouling is less sensitive to cleaning steps than Colloids fouling. The flux recovery obtained after both cleaning steps was equal to 20%, due to their stronger interactions with the membrane. This is also consistent with the HPO standard blocking mechanisms. However, about 14% of the flux was recovered after the relaxation, which is higher than that for Colloids. Air scouring is thus very efficient on HPO fouling mitigation (Table III.8). TPI fouling is difficult to remove with relaxation (2%) and backwashing (7%) meaning that some functional moieties (such as -NH₂ or COOH groups) from the TPI fraction have really strong interac-

tions with the membrane. Furthermore, TPI were mostly removed by the backwashing step rather than the relaxation step, as already observed for the Colloids fraction.

Concerning mixed fraction flux recovery, a significant increase in the cleaning effect can be observed in comparison with single fractions, despite the global synergistic effect observed during filtration (Table III.8). According to standard error, C+HPO and C+TPI showed similar flux recovery for both cleanings, with a global flux recovery equal to 44% and 38%, respectively (Table III.8). C+HPO revealed a slightly higher flux recovery after relaxation than C+ TPI fouling, which is in accordance with the trend observed for HPO and TPI alone. Interestingly, 13% of flux recovery was obtained after relaxation of the membrane fouled by HPO+TPI, which is higher than the expected value when considering HPO and TPI alone. Interactions in suspension between these two fractions limit adhesion to the membrane surface, which is in accordance with the results observed in section 3.2.2. Concerning C+HPO+TPI, the observed flux recovery obtained from relaxation is in the same order of magnitude as that observed for C+HPO and C+TPI and is higher than HPO+TPI (Table III.8). However, as shown in Table III.8, the maximum flux recovery was possible with a simple relaxation while considering the C+HPO+TPI mix, minimizing the importance of the backwashing step.

Fouling due to mixed fractions was more reversible than single fractions and was mostly removed by relaxation. This is probably due to the interactions between the different fractions, such as adsorption of HPO and TPI on the Colloids surface, leading to the modification of foulant-membrane relationship. Hence, air scouring helps in mitigating reversible fouling. Total flux recovery was not however reached, confirming that DOM promotes long term irreversible fouling. Those results obtained with full-scale MBR DOM fractions confirm the previously reported results obtained in lab-scale MBR [145], [126]. It was indeed demonstrated that interactions between DOM fractions impact also the interaction between DOM and membrane, guiding the choice of fouling control strategy [65]. However, Zheng *et al.* (2014) [53], found that mixed fractions promoted more irreversible fouling than single Colloids fraction. Consequently, carbon mass balances were established to further understand the foulant-membrane link established during filtration tests.

3.4 Carbon mass balances

In order to complete the MBR DOM fractions fouling study, TOC measurements were done on each of the collected solutions (feed, permeate and cleaning solutions obtained from cleaning). TOC results were used to evaluate the irreversible carbon deposited onto the membrane after mechanical cleaning steps using a mass balance (Figure III.6). This was chosen as an indicator to quantitatively characterize the results obtained during filtration and after cleaning steps, and more specifically the irreversible fouling.

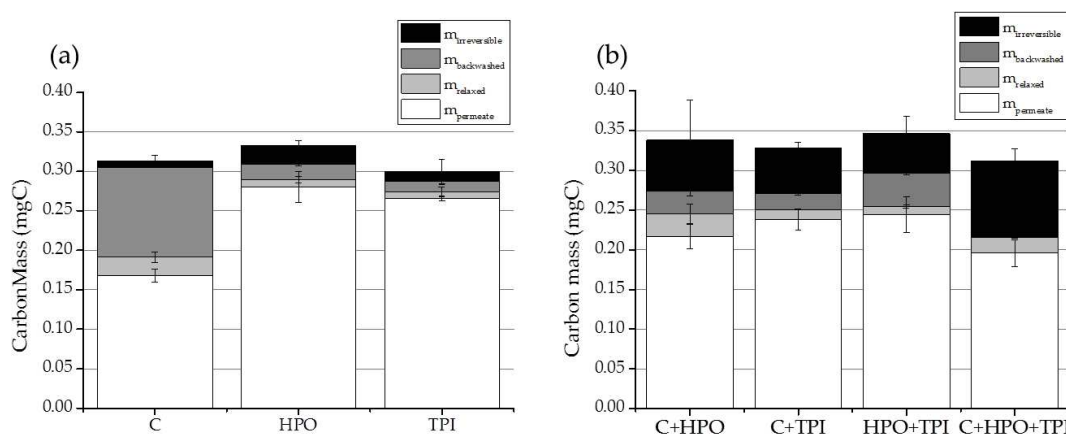


Figure III.6 – Carbon mass collected in the permeate (m_{permeate}), the relaxation solution (m_{relaxed}), the backwashing solution ($m_{\text{backwashed}}$) and that remaining on the membrane ($m_{\text{irreversible}}$) for a) single fractions and b) mixed fractions

Figure III.6a shows that the Colloids fraction is the most rejected single fraction compared to HPO and TPI. Indeed, 46%, 16% and 12% of the total filtered carbon was rejected by the membrane for Colloids, HPO and TPI, respectively, confirming that Colloids are the major foulants. Concerning Colloids, 94% of the retained Colloids were removed after both relaxation and backwashing cleaning (16% and 78%, respectively), corresponding to 35% of flux recovery after cleaning (Figure III.6a and Table 2.4). Hence, the cake layer formed by Colloids (when filtered alone) is associated with reversible fouling, confirming the results of section 3.3. In contrast, for HPO and TPI, only 55% and 63%, respectively, of the retained carbon is removed. In proportion, HPO and TPI are less retained than Colloids, but are associated with more irreversible carbon since 45% and 37% of the deposited carbon, respectively, cannot be removed by mechanical cleaning.

Concerning mixed fractions, despite their similar flux reduction to Colloids (Table III.7), less carbon from C+HPO, C+TPI and C+HPO+TPI (36%, 28 % and 37%) is rejected by the

membrane (Figure III.6b), confirming the synergistic effect observed. Moreover, in proportion, the retained carbon of the mixed fractions C+HPO, C+TPI and C+HPO+TPI is associated with more irreversible carbon than Colloids (53%, 64 % and 83%, respectively), despite their good flux recoveries. Concerning HPO+TPI, 29% of carbon is retained by the membrane, while the associated flux reduction is lower than other mixed fractions. Those results imply that fouling is not a direct function of carbon mass, probably due to the specific foulant/membrane and foulant/foulant interactions. However, carbon mass is a good indicator to characterize the long term effect of the different classes of molecules contained in DOM from MBR supernatant. Hence, single fractions when considered alone, can be easily removed by mechanical cleanings even if HPO and TPI are preferentially adsorbed onto the membrane surface due to their respective hydrophobicity and functional groups. However, while mixed fractions are characterized by higher flux recoveries, they are associated with more irreversible carbon deposition onto the membrane surface. It is therefore necessary to follow DOM quantitatively and understand further the interactions between the different molecule classes since they will determine the long term deposition onto the membrane surface.

4 Conclusions

- Combining dialysis/XAD resins fractionation with analytical tools such as 3DEEM, THM-GC/MS and LC-OCD is of major interest to further characterize MBR supernatant potential foulants in terms of size, hydrophobicity and nature.
- Performing dead-end filtrations on single fractions, Colloids were identified as major foulants causing cake fouling due to their size and proteinic nature. However, the cake layer was easily controlled by relaxation. On the contrary, HPO and TPI fractions have a minor fouling effect, but are characterized by irreversible fouling which might play a major role in long term fouling mechanisms.
- Filtration tests on mixed fractions highlighted the impact of foulant-foulant interactions on fouling mechanisms. Indeed, when Colloids were mixed with fractions having less fouling propensities (HPO, TPI or HPO+TPI), mixed fractions fouling propensities were exacerbated. It is consequently of major interest to variables that take these interactions into account in filtration models.

- The study of fouling mechanical reversibility pointed out that foulant-foulant interactions led to more flux recovery using relaxation, but more irreversible fouling. Hence, air scouring and punctual chemical cleanings are sufficient, while backwashing is useless.
- Carbon mass balance results, demonstrate the fact that mixed fractions induce more irreversible fouling. Hence, it is a priority to quantify DOM to determine the long term effect on the membrane in order to limit or delay this phenomenon.
- Thus, for practical implications, besides air scouring control, reduction of Colloids content (protein like-substances) by choosing appropriate biological conditions and/or bio-flocculation could help in minimizing major fouling mechanisms. However, the proportion of low MW compounds (humic-like substances) should also be taken into consideration to limit interactions that could change cake layer porosity or foulant-membrane interactions.

5 Implications et perspectives

Cette étude a permis de caractériser trois fractions (Colloïdes, HPO et TPI) de la DOM contenues dans le surnageant du BâM de la STEP de La Grande-Motte, isolées suivant leur taille et leurs propriétés d'hydrophobicité.

- La caractérisation par LC-OCD a permis de mettre en évidence le fait que les fractions HPO et TPI étaient principalement composées de molécules de petite taille (1 kDa), tandis que les colloïdes pouvaient atteindre jusqu'à 100 kDa.
- La 3DEEM et la THM-GC/MS, ont confirmé la nature hydrophile des colloïdes, qui sont composés principalement de protéines, et la nature hydrophobe des HPO, composés quant à eux de substances humiques majoritairement. Ceci rejoint les résultats de la littérature (Chapitre I). Les TPI, qui sont peu décrits dans la littérature, étaient composés principalement de groupements aromatiques et aliphatiques, en lien avec leur caractère intermédiaire d'hydrophobicité.

Les interactions entre composés, déjà observées sur des molécules modèles, ont été confirmées dans cette étude [65]. Par conséquent, les molécules ne se comportent pas comme des entités individuelles lorsqu'elles sont mélangées dans les boues activées. Il a été montré que les mélanges de fractions engendraient des chutes de flux plus importantes que celles calculées par le modèle de résistances en séries. De plus, les interactions composé/composé modifiaient le comportement des fractions vis-à-vis de la membrane, induisant un colmatage irréversible plus important que lorsqu'elles sont seules en solution. Ces interactions sont difficiles à intégrer dans les modèles de colmatage classiques, car les résistances du dépôt de chaque fraction ne peuvent être additionnées (III.7). Etant donné que le surnageant contient un mélange de milliers de molécules, le développement de modèles prenant en compte ces interactions est un challenge scientifique majeur.

Une alternative pour la maîtrise du colmatage membranaire pourrait être le contrôle de la concentration ou des proportions des fractions de DOM. En effet, Zheng *et al.* (2014) [53] ont déjà évoqué l'intérêt de réguler la concentration des biopolymères (colloïdes), pour limiter le colmatage. Pour cela il est possible d'intensifier l'étape de floculation/coagulation. Néanmoins, il s'agirait de développer des solutions peu coûteuses en terme d'investissement, de fonctionnement et de produits chimiques (produits biosourcés à haute efficacité, couplage avec tamis rotatif, gestion efficace des boues supplémentaires générées). Une autre solution

serait de limiter la production « à la source » de ces composés en optimisant le paramétrage « en temps réel » des opérations unitaires biologiques. Cela passerait par la mise en évidence d'indicateurs de composés de la DOM, pour les identifier par taille et par nature, et pouvant être implémentés pour un suivi en ligne. Cette identification rapide de la composition de la DOM dans les bassins de boues activées pourrait permettre d'implémenter un contrôle/commande sur des paramètres influençant la production des composés les plus colmatants, tels que le SRT, le HRT ou encore le ratio F/M.

A ce jour, les indicateurs globaux suivis dans les stations d'épuration ne sont pas suffisants pour discriminer les différents types de DOM. Tandis que les méthodes analytiques classiques utilisées pour la caractérisation de la DOM, sont lourdes en terme d'appareillage et/ou d'interprétations des résultats, limitant ainsi leur application en ligne (Chapitre I).

Dans une revue récente sur la détection de la DOM par la 3DEEM dans les systèmes de traitement des eaux usées, Carstea *et al.* (2016) [4] ont montré la potentialité de l'utilisation de cette méthode dans le suivi en ligne. Néanmoins, il existe un manque de méthodes d'extraction des données de fluorescence et de leur exploitation, limitant ainsi son application directe. En effet, comme évoqué précédemment (Chapitre I), c'est une méthode qui, dans son utilisation actuelle ne se suffit pas en tant que telle, ne donnant que des informations qualitatives ou semi-qualitatives (nature, concentration en fluorophores, indices de fluorescence). Dans l'étude présentée dans le Chapitre III, les spectres de 3DEEM obtenus sur les différents fractions (Colloïdes, HPO et TPI) ont confirmé que les Colloïdes fluorescent principalement dans les Régions de fluorescence I+II et IV, correspondant aux protéines aromatiques et aux produits microbien solubles. Tandis que les Régions III et V, correspondant aux substances de type humiques et fulviques, sont caractéristiques des molécules hydrophobes et transphiliques. Ainsi, dans la suite de ces travaux de thèse, ces indicateurs et leur potentialité pour le suivi en ligne de la DOM pour l'étude du colmatage seront étudiés.

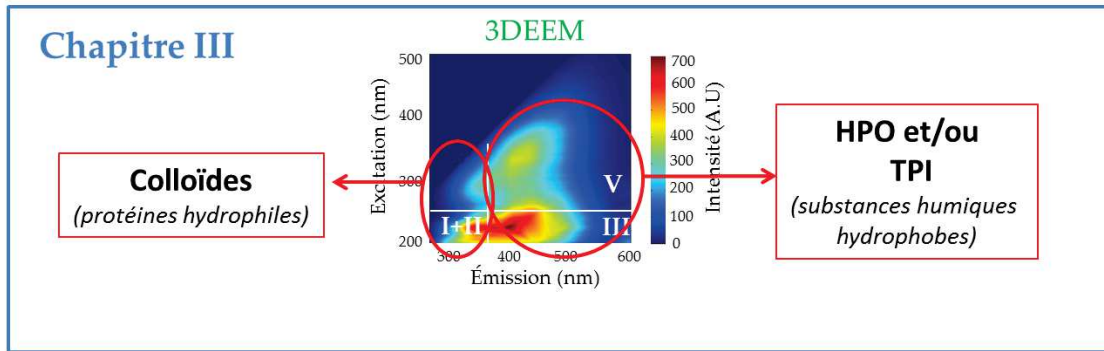


Figure III.7 – Indicateurs de fluorescence spécifiques des fractions de DOM extraites à La Grande-Motte

Chapitre IV

3DEEM for quick and pseudo-quantitative determination of proteins- and humic-like substances in full-scale MBR

Objectifs et approches du Chapitre IV

La 3DEEM n'ayant été utilisée que qualitativement dans le Chapitre III, il est apparu intéressant d'essayer de lier les informations extraites de ces spectres à des valeurs quantitatives obtenues par des techniques classiques d'analyse de la DOM. Plusieurs techniques ont ainsi été utilisées en parallèle de la 3DEEM : les méthodes colorimétriques de Lowry modifiée et de Dubois (quantification des protéines et polysaccharides, respectivement), ainsi que la LC-OCD-OND (Chapitre II). Cette dernière permet, par le couplage d'une chromatographie liquide et une détection du carbone et de l'azote organiques (LC-OCD-OND), de séparer et quantifier les composés de la DOM tels que : les biopolymères (protéines et polysaccharides, > 20 kDa) et les substances humiques (d'environ 1 kDa). Ceux-ci ont donc des nature et taille très proches des composés fluorescents détectés dans les fractions isolées de DOM (Chapitre II).

Pour réaliser cette étude, des échantillons de surnageant de boues activées et de perméat ont été prélevés dans le BâM de La-Grande-Motte et analysés via les quatre méthodes de caractérisation de la DOM citées ci-dessus. Pour estimer l'existence de liens entre les paramètres issus des méthodes analytiques, une analyse statistique a été réalisée (Chapitre II). Les analyses de 3DEEM, Lowry modifiée et de Dubois ont été faites à l'IEM, tandis que les mesures de LC-OCD-OND ont été réalisées par Jacqueline Traber et Wouter Pronk à l'EAWAG (Suisse), au travers d'une collaboration fructueuse ayant menée à la publication d'un article scientifique publié en 2017 [6].

Three-dimensional excitation and emission fluorescence (3DEEM) for quick and pseudo-quantitative determination of protein- and humic-like substances in full-scale Membrane BioReactor (MBR)

Céline Jacquin¹, Geoffroy Lesage¹, Jacqueline Traber², Wouter Pronk², Marc Heran¹

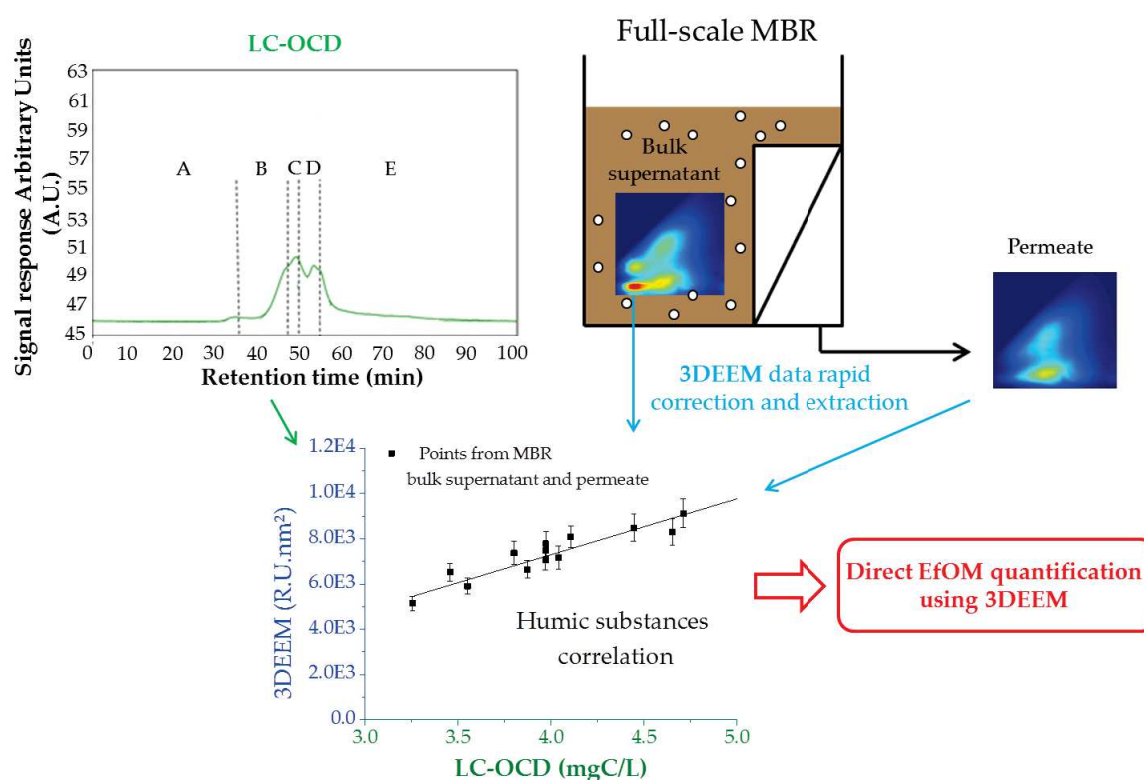
¹IEM (Institut Européen des Membranes), UMR 5635 (CNRS-ENSCM-UM), Université de Montpellier, Place E. Bataillon, F- 34095, Montpellier, France.

²Eawag, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, P.O. Box 611, 8600 Dübendorf, Switzerland.

Abstract

The goal of this study is to help filling the research gaps linked to the on-line application of fluorescence spectroscopy in wastewater treatment and data processing tools suitable for rapid correction and extraction of data contained in three-dimensional fluorescence excitation-emission matrix (3DEEM) for real-time studies. 3DEEM was evaluated for direct quantification of Dissolved Organic Matter (DOM) fractions in full-scale MBR bulk supernatant and permeate samples. Principal Component Analysis (PCA) was used to investigate possible correlations between conventional modified Lowry and Dubois methods, Liquid Chromatography coupled to Organic Carbon and Organic Nitrogen Detection (LC-OCD-OND) and 3DEEM. 3DEEM data were analyzed using the volume of fluorescence ($\Phi(i)$) parameter from the Fluorescence Regional Integration (FRI) method. Two mathematical correlations were established between LC-OCD-OND and 3DEEM data to quantify protein-like and humic-like substances. These correlations were validated with supplementary data from the initial full-scale MBR, and were checked with samples from other systems (a second full-scale MBR, a full-scale conventional activated sludge (CAS) and a laboratory-scale MBR). While humic-like correlation showed satisfactory prediction for a second full-scale MBR and a CAS system, further studies are required for protein-like estimation in other systems. This new approach offers interesting perspectives for the on-line application of 3DEEM for DOM quantification (protein-like and humic-like substances), fouling prediction and MBR process control.

Graphical Abstract



1 Introduction

A major limitation for the widespread application of Membrane Bioreactors (MBR) is membrane fouling [31], [39]. Indeed, this reduces plant productivity, shortens membrane lifetime, increases energy consumption and the need for chemical cleaning [127], [157]. Strategies have already been established to control reversible fouling caused by particles and flocs deposited onto the membrane surface (e.g. relaxation, backwash, air scouring) [20]. However, those strategies are not fully efficient for molecules that can adsorb onto the membrane surface and inside the pores, causing irreversible fouling. Additionally, those substances can provide a substrate for biofilm development [169]. Thus, the understanding and control of irreversible fouling is essential for the long-term and sustainable operation of MBR [27], [22].

Molecules which promote irreversible fouling are mostly organic, colloidal or soluble compounds, present in the liquid phase, also referred to as bulk supernatant or dissolved organic matter (DOM) [206]. The organic compounds present in the DOM may originate from the influent, but most of these compounds are generated within the bioreactor by the

biomass activity [76]. Usually, extracellular polymeric substances (EPS) are defined as biological reaction by-products and which can occur either attached to microbial cell surfaces or flocs (bound EPS) [22], [63], or dissolved in the liquid phase (dissolved EPS). Dissolved EPS are also referred to as soluble microbial products (SMP) [207]. More precisely, SMP are the “pool of organic compounds that are released into the solution from biomass growth and decay” such as polysaccharides, proteins, humic acids or nucleic acids [153], [2], [208]. Many research groups agree that SMP are one of the main MBR foulants and the major source of dissolved organic carbon in MBR bulk and permeate [96]. But, due to DOM complexity, this statement is still controversial and the exact composition of the DOM responsible for membrane fouling remains relatively unclear. Thus, in order to increase knowledge about DOM in MBR bulk, efficient and easy-to-use characterization tools, that could be used on-line, have to be developed. Such advanced tools will contribute to a better understanding of the origin of foulants in MBR, the contribution of SMP in DOM, or even the ambivalent role of Natural Organic Matter (NOM) in MBR processes in general.

Numerous methods were developed to characterize DOM occurrence and concentration. In many studies the well-known photometric methods of Dubois [26] and modified Lowry [25] are used to quantify polysaccharides and proteins, respectively [161], [96]. However, these methods could be subject to interferences by other compounds from the biological matrix and do not provide any information about other DOM components including humic-like substances (which can be from terrestrial and microbial origin) and nucleic acids [154]. Nowadays, DOM size fractionation and quantification are possible using a size-exclusion liquid chromatography combined with organic carbon and organic nitrogen detection (LC-OCD-OND) [5], [112]. This permits the separation of molecules according to their size and the quantification of their corresponding organic carbon and nitrogen concentrations. This method is expensive and time- and labor-intensive, limiting its application and making its on-line application unrealistic.

Another method for NOM characterization is three dimensional Excitation-Emission Matrix (3DEEM) analysis [126]. It is quick, easy-to-use, non-destructive and does not require complex sample preparation [100]. It is based on measuring the fluorescence of DOM samples and provides spectra describing sample composition in terms of fluorophore-associated molecules, making it relevant for on-line acquisition [101]. However, Carstea *et al.* (2016) [4]

highlighted the fact that there is a lack of methods for rapid correction and extraction of 3DEEM data, suitable for on-line measurements in wastewater treatment.

Indeed, Parallel Factor Analysis (PARAFAC) methods usually used for 3DEEM analysis require a large number of spectra, while its use is time-consuming and not adapted to on-line-measurements [93], whereas peak-picking methods restrict fluorescence information, since only one excitation/emission intensity value is used for analysis. Furthermore, it should be noticed that the direct quantification of fluorescent molecules using 3DEEM can be of major interest for DOM investigation, but the development of this method is still in progress.

In this study, MBR bulk supernatant and permeate samples, taken from a domestic wastewater treatment plant (WWTP), were analyzed with four DOM characterization methods : modified Lowry, Dubois, LC-OCD-OND and 3DEEM. Principal Component Analysis (PCA) was used to identify possible links between those characterization methods. Then, mathematical correlations were proposed to simplify DOM investigation in a complex matrix and enhance knowledge and comprehension of fouling in MBR WWTP. Additional samples from three other systems : two full scale WWTPs (MBR and Conventional Activated Sludge (CAS)) and one laboratory-scale MBR, were used to confirm the previously established correlations. Finally, this original method was applied to calculate theoretical membrane retention rates from 3DEEM spectra integration for both humic-like and protein-like substances and these values were compared with experimental membrane retention efficiencies calculated from LC-OCD-OND results.

2 Material and methods

2.1 Sample collection and preparation

The chosen reference MBR (named as MBR1) was included in the treatment line of a WWTP from the Montpellier area, France (60.000 p.e) where biological nitrogen removal (nitrification/denitrification) and biological dephosphatation are performed. MBR1 was equipped with a KUBOTA Submerged Membrane Unit® (SMU) (KUBOTA, Japan) flat sheet microporous membrane made of chlorinated polyethylene, with an average pore size of 0.2 μ m, corresponding to the molecular weight cut-off (MWCO) of 3.5.10⁹Da. MWCO was estimated

using Eq. IV.1 proposed by Erickson (2009) [199] :

$$R_{min} = 0.066MW^{1/3} \quad (IV.1)$$

Where R_{min} is the minimum radius of a molecule in nm and MW is its molecular weight in Da.

As DOM is mostly generated by biomass, known to be sensitive to physical-chemical parameters and operating condition variations, sampling was performed during a transitory period (between May and November 2015) to ensure a large sample set corresponding to important variations in terms of Temperature, Inlet flow rate, MLSS, HRT and SRT (Figures IV.1a and IV.1b). Indeed, this period includes the summer period (from mid-June to early September 2015) where the population equivalent is multiplied by ten (inlet flow rate increases from almost 2500m³/d to about 5000m³/d) and is characterized by higher temperatures (Figure IV.1b).

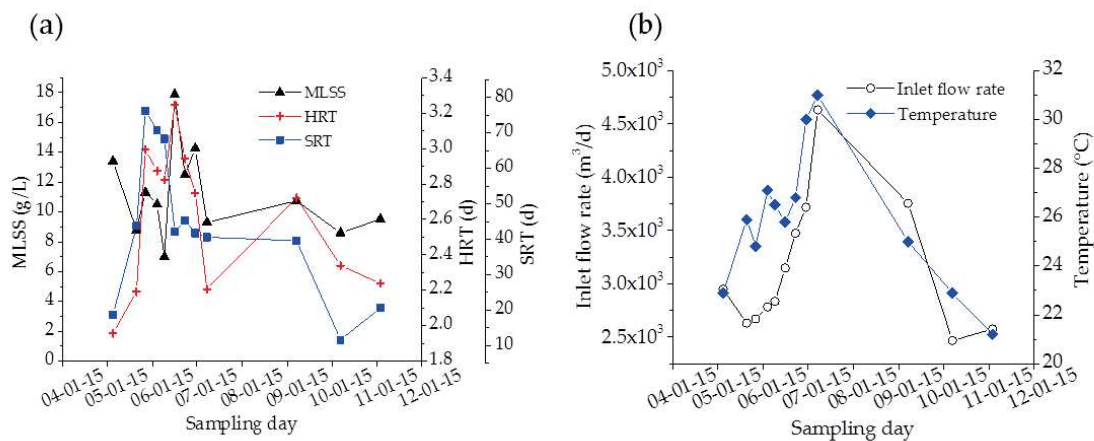


Figure IV.1 – Evolution over time during the sampling period (May to November 2015 of a) BS-MBR1 MLSS concentration, HRT and SRT and b) inlet flow rate and temperature

MBR1 samples were taken directly within the MBR tank. Mixed Liquor Suspended Solid (MLSS) concentrations were measured in duplicate using standard methods (APHA, 2005). Then, prior to analysis, all biological reactor bulk samples were centrifuged (10min., 4000g) and filtered through 1.2µm (7.5.10¹¹Da) glass microfiber filters (Whatman GF/C) and these samples were denoted as Bulk Supernatant (BS) to obtain BS-MBR1 samples. Permeate (P) was taken at the outlet of the plant and referred to as P-MBR1.

Following this, additional samples were used : BS'-MBR1 and P'-MBR1 refer to bulk su-

pernatant and permeate samples of MBR1 during the winter season (January 2016); BS-MBR2 and P-MBR2 refer to bulk supernatant and permeate samples from a membrane bio-reactor WWTP (MBR2) equipped with ZeeWeed® 500D hollow-fiber membrane modules (GE/Zenon, Canada), made of polyvinylidene difluoride (PVDF) and having an average pore size of 0.04µm; BS-CAS and E-CAS refer to bulk supernatant and effluent samples from a Conventional Activated Sludge plant (CAS) (Table IV.1).

Finally, a laboratory scale hollow fiber MBR (labMBR) fed with synthetic substrate was sampled. The substrate solution consisted of 250mgCOD/L sodium acetate, 250mgCOD/L sodium propionate, 5mgCOD/L yeast mixture extract, 5mgCOD/L oleic acid and 190mg/L NH₄Cl. For this last system (lab-MBR), bulk supernatant, permeate and backwashing solution (BWS) were sampled (respectively called BS-labMBR, P-labMBR and BWS-labMBR).

Table IV.1 – Name and origin of samples

System/Samples	Bulk Supernatant	Permeate/Efflué	BackWashing Solution
MBR1 60 000 p.e (May to November 2015)	BS-MBR1	P-MBR1	-
MBR1 60 000 p.e (January 2016)	BS'-MBR1	P'-MBR1	-
MBR2 18 000 p.e (January 2016)	BS-MBR2	P-MBR2	-
CAS 5 000 p.e (January 2016)	BS-CAS	E-CAS	-
<i>lab</i> MBR	BS- <i>lab</i> MBR	P- <i>lab</i> MBR	BWS- <i>lab</i> MBR

2.2 DOM characterization

2.2.1 Colorimetric methods

The modified Lowry and Dubois methods [25], [26] were respectively used to quantify protein (PN) and polysaccharide (PS) content in the bulk supernatant (BS) and permeate (P) samples. All samples were analyzed in triplicate. BSA (Sigma-Aldrich, Germany, purity ≥ 98%, lyophilized powder) and D-glucose (Acros Organics, Belgium, anhydrous purity 99+%) solutions were used to calibrate the methods. Calibration solutions were analyzed with TOC measurements, using a TOC-meter (TOC-CVS, Shimadzu, Japan).

2.2.2 LC-OCD-OND

LC-OCD-OND analyses were performed according to the method described previously [5]. All samples were passed through a size exclusion chromatographic column from Tosoh (Toyopearl TSK HW-50S, 250x20mm, with a separation range of 20kDa-100Da) with a flow rate of 1ml/min. A Phosphate-buffer (2 mM, pH = 6.6) was used as eluent. Phosphoric acid (60mM, pH = 1.2) was used to strip out, firstly, the inorganic CO₂. Then, the flow was split into a special DONOX-reactor and into a Graentzel thin-film reactor. N-Compounds were fully oxidized into Nitrate, whereas C-Compounds were fully oxidized into CO₂. The resulting CO₂ was quantified with a Siemens IR detector whereas; Nitrate was detected with a UV detector at 220nm. LC-OCD-OND system calibration was performed using IHSS-Standards of Humic and Fulvic Acids [209].

The LC-OCD-OND chromatogram shows five peaks which are directly linked to fractions with different molecular weights (MW) in the dissolved phase [5], [108], and which are generally defined as biopolymers (fraction A), humic substances (B), building blocks (C), low molecular acids (D) and low molecular weight neutrals (E) (Figure IV.2b and Table IV.2).

Biopolymers are constituted of polysaccharides and proteins [210], [193]. Thanks to both Organic Carbon (OCD) and Organic Nitrogen Detectors (OND), Dissolved Organic Carbon (DOC) and Nitrogen (DON) concentrations were measured for all fractions. They can then be used for the calculation of the concentration of proteins in biopolymers. Indeed, all DON concentrations associated with the biopolymer fraction were assumed to be bound in proteins. In other words, no other molecules can be associated with DON in the biopolymers fraction. With an estimated C/N mass ratio of 3 for proteins, it is possible to calculate protein percentage in the biopolymer fraction using Eq. IV.2 presented hereafter [5] :

$$Proteins\ in\ BP\ (\%) = \frac{BP_{OND} \times 300}{BP_{OCD}} \quad (IV.2)$$

Where :

Proteins in BP = Percentage of proteins within the biopolymer fraction (%)

BP_{OND} = DON concentration measured in the BP fraction (mgN/L)

BP_{OCD} = DOC concentration measured in the BP fraction (mgC/L)

For humic substances (HS_{OCD}) and building blocks (BB_{OCD}), the organic carbon concentrations were added to give a new variable denoted $HS+BB_{OCD}$. Indeed, as shown in Figure IV.2b, the HS_{OCD} signal is a shoulder of BB_{OCD} peak. Similarly, the LMW_{OCD} variable has been calculated by adding low molecular weight acids concentrations ($LMW-A_{OCD}$) and low molecular weight neutrals concentrations ($LMW-N_{OCD}$) due to their size and MW under 350Da.

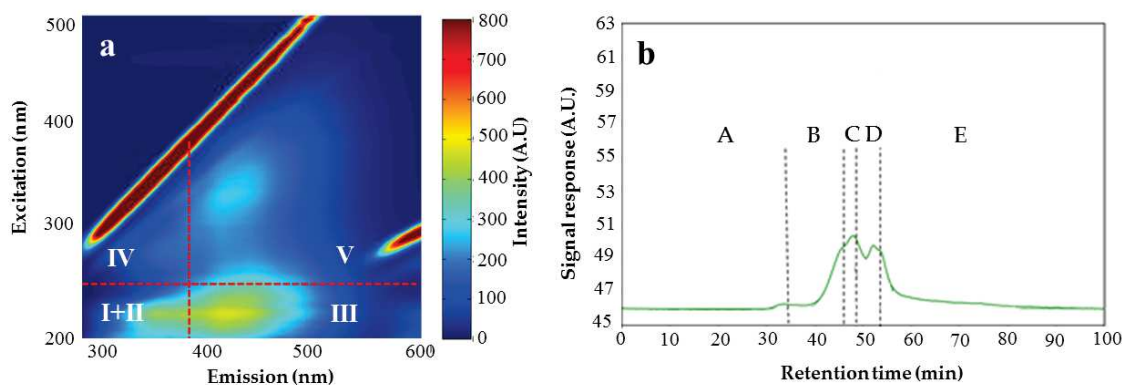


Figure IV.2 – Examples of a) 3DEEM spectrum and b) LC-OCD-OND chromatogram obtained for BS-MBR1 samples

Table IV.2 – 3DEEM and LC-OCD-OND response and their associated names and characteristics

3DEEM					
Region	I+II	III	IV	V	-
Abbreviation	Prot1+2-like _{3DEEM}	FA-like _{3DEEM}	SMP-like _{3DEEM}	HA-like _{3DEEM}	-
Excitation Emission wavelengths	Ex=200-250nm Em=280-380nm	Ex=200-250nm Em=380-600nm	Ex=250-350nm Em=280-380nm	Ex= 250-500nm Em=380-500nm	-
Characteristics	Fluorophores associated with aromatic-like molecules (Tyrosine)	Fluorophores associated with fulvic acid-like molecules	Fluorophores associated with SMP-like molecules (Tryptophane)	Fluorophores associated with humic acid-like molecules	-
LC-OCD					
Fraction	A	B	C	D	E
Name	Biopolymers	Humic substances	Building blocks	Low molecular weight acids	Neutrals
Abbreviation	$BP_{OCD}/BP_{OCD/OND}$	HS_{OCD}	BB_{OCD}	$LMW-A_{OCD}$	N_{OCD}
MW (Da)	$7.5 \cdot 10^{11} - 20,000$	$\sim 1\,000$	$\sim 300-500$	<350	<350
Characteristics	Macromolecular Proteins and Polysaccharides	Humic acids and Fulvic acids	Degradation products from HS	Final degradation products of organics but also released by bacteria	Alcohols, aldehydes, ketones, sugars and amino acids

2.2.3 3DEEM

Fluorescence spectra were obtained in duplicate using a Perkin-Elmer LS-55 spectrometer (USA) after sample dilution with pure water (Milli-Q, Millipore Co. Ltd) to avoid inner filter effect (UV_{254} absorbance lower than 0.1 1/m). The dilution ratio was determined after measurements at successive dilution ratios, in order to limit overlapping signals [4]. The scan ranges were set at 200-500nm and 280-600nm in excitation and emission respectively to obtain a wide range of information about all organic compounds [3]. The scan speed was fixed to 1000 nm/min and the increment to 2nm, while slit width was fixed at 10 nm in excitation and emission. All spectra were normalized by the Raman area [211] and Milli-Q water blanks were analyzed in the same conditions as the samples [212]. The 3DEEM response (Figure IV.2a) was divided into four areas, according to the following classification : aromatic protein-like fluorophores (Region I+II), fulvic acid-like fluorophores (Region III), soluble microbial product-like fluorophores (Region IV) and humic acid-like fluorophores (Region V) [3]. Integration was carried out over the specific spectrum regions which correspond to specific fluorophores bound to fluorescent compounds (Figure IV.2a). This method permits all the fluorescence information within each region to be taken into account. Hence, the Volume of Fluorescence ($\Phi(i)$) was calculated within the different fluorophore associated-regions (i) reported in Table IV.2 [204].

This method enables a comparison of different samples and an analysis of the variations in fluorescence, which reduces the calculation time using the raw matrix and requires no advanced mathematical effort. Volumes of Fluorescence ($\Phi(i)$) were calculated from the corrected matrix, following the integration method according to Chen *et al.* (2003) [3] within each region (i), applying Eq. IV.3

$$\Phi(i) = MF(i) \sum_{ex} \sum_{em} I(\lambda_{ex}, \lambda_{em}) \Delta\lambda_{ex} \Delta\lambda_{em} \quad (IV.3)$$

In which MF(i) is a multiplication factor, $\Delta\lambda_{ex}$ is the excitation wavelength interval (taken as 2 nm), $\Delta\lambda_{em}$ is the emission wavelength interval (taken as 0.5 nm) and $I(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ is the fluorescence intensity at each excitation-emission pair (Raman units).

$\Phi(i)$ normalization was necessary to compare values from different regions of the 3DEEM response. To do so, MF(i) was calculated using Eq. IV.4.

$$MF(i) = \frac{Area_{tot3DEEM}}{Area_{region(i)}} \quad (IV.4)$$

With :

$Area_{tot3DEEM}$ = Total spectrum area (nm²)

$Area_{region(i)}$ = Region (i) area (i) (nm²)

2.3 Statistical analysis

Statistical analysis was performed on DOM characterization data using Rstudio® software. To highlight possible correlations between all the analytical methods, a FactoMineR package Principal Component Analysis (PCA), including PCA normalization as default parameters, was used. This method reduces variable input complexity by generating new variables or components [213]. PCA is a data mining technique that compresses all available data into a small number of new variables called principal components. Those new variables are obtained from geometric calculations in a space of p axis (the number of experimental variables in this study) where the n individuals are plotted (the sampling day values in this study). From this, the first axis was determined in order that the scatter plot was less deformed through orthogonal projection. The following axes were calculated the same way but must be orthogonal to the first axis. The variance was calculated for each new axis and its ratio with the number of variables was used as an indicator of representativeness also referred to as the proportion of variance (Eq. IV.5) :

$$Proportion\ of\ variance\ (\%) = \frac{Variance}{Number\ of\ variables\ (p)} \quad (IV.5)$$

To simplify correlation understanding, the two first principal components, that are associated with the highest proportion of variance, were selected and used for graphical representation. This descriptive tool was used to explore and visualize the multivariate data set drawing vectors and allowed a quick understanding of possible inter-correlated variables. Hence, small angles between vectors (arrows in Figure IV.3) confirm that corresponding variables are strongly correlated.

3 Results and discussion

3.1 Principal Component Analysis (PCA) of different analytical methods

A multi-dimensional analysis was performed to reflect the main correlations between the variables defined by results from DOM characterization methods used in this study.

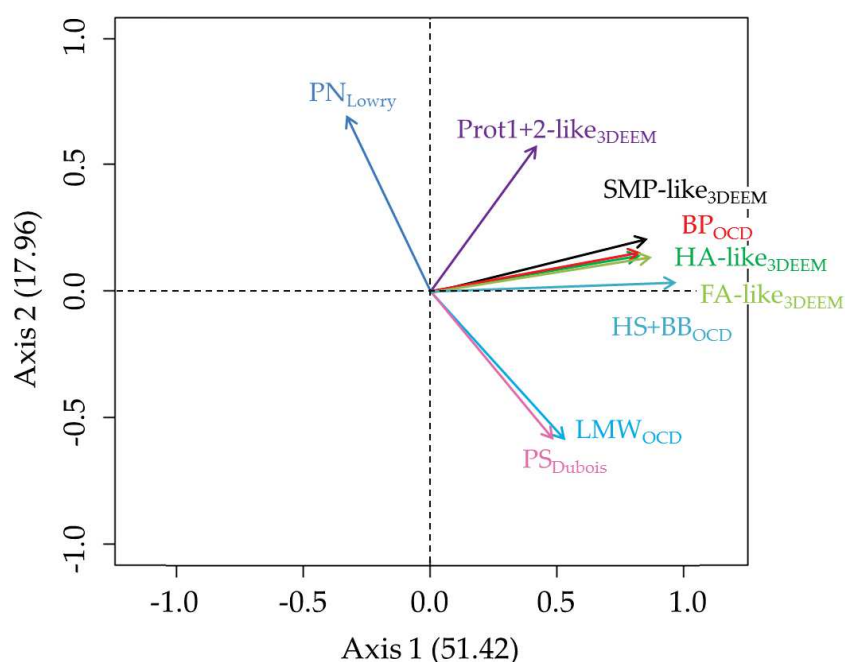


Figure IV.3 – Principal Component Analysis (PCA) of Dubois, modified Lowry, LC-OCD-OND and 3DEEM analysis from MBR1 sampling campaign (from May to November 2015 (n=16))

Figure IV.3 shows the corresponding PCA applied to Dubois, modified Lowry, LC-OCD-OND and 3DEEM analysis of BS and P samples taken from MBR1. This PCA is validated since 69.38% (51.42% + 17.96%) of the variance of the data set was captured by two principal components. Hence, the information contained in the DOM variables is described at 69.38% by two new axes (Axis1 and Axis2). Axis 1 mainly results from the contributions of five variables : BP_{OCD} , $HS+BB_{OCD}$, $SMP-like_{3DEEM}$, $FA-like_{3DEEM}$ and $HA-like_{3DEEM}$ (with contributions between 14.6 and 20.2%). Axis 2 mainly results of the contributions from four variables : LMW_{OCD} , $Prot1+2-like_{3DEEM}$, PN_{Lowry} and PS_{Dubois} (with contributions between 20.4 and 30.0%) (Tables C.1, C.2, C.3, C.4 and C.5 and Figure C.1 in Supplementary data).

Several interesting correlations can be observed :

- The sum of humic substances and building blocks measured by LC-OCD-OND ($HS+BB_{OCD}$)

and humic-like substances measured by 3DEEM (HA-like_{3DEEM}) are linked. This correlation was expected and has already been shown in other studies [214], [112]. In addition, Figure IV.3 also highlights a strong correlation between HS+BB_{OCD}, HA-like_{3DEEM} and FA-like_{3DEEM}. It implies that the description of the fluorescence of HS+BB_{OCD} compounds should be done with fluorophores present in both FA-like (III) and HA-like (V) 3DEEM regions, which are regions of high signal intensity.

- Interestingly, HS+BB_{OCD} is correlated to biopolymers measured by LC-OCD-OND (BP_{OCD}). Since BP_{OCD} are considered as DOM originating from microbial activity [5], this suggests that HS+BB_{OCD} present in the WWTP bioreactor are mainly microbial products. This reinforces the view that DOM is dominated by organic matter originating from biomass activity [96].
- Biopolymers measured by LC-OCD-OND (BP_{OCD}) are strongly correlated with SMP measured by 3DEEM (SMP-like_{3DEEM}), suggesting that BP contain proteins [108], [96]. Thus, SMP-like fluorophores could be considered as protein indicators.
- Finally, the correlation between low molecular weight molecules measured by LC-OCD-OND (LMW_{OCD}) and polysaccharides measured by Dubois (PS_{Dubois}) concentration suggests that LMW are probably mainly composed of sugar and polysaccharide degradation products which are quantified by the Dubois method.

Surprisingly, protein-like compounds in Region I+II measured by 3DEEM (Prot1+2-like_{3DEEM}, Table IV.2) do not present a strong correlation with BP_{OCD}. Biopolymers (BP) are composed of polysaccharides which do not have fluorescence properties and of proteins which were expected to fluoresce in the Prot1+2-like region. This discrepancy could be explained by the fact that proteins which fluoresce in the Prot1+2-like region probably exist in colloidal form that would not be detected by LC-OCD-OND (because of the column separation range). Hence, Prot1+2_{3DEEM} would be mostly associated with colloidal proteins, while SMP-like_{3DEEM} and BP_{OCD} are mainly associated with macromolecular proteins present in the dissolved phase.

Concerning PN_{Lowry}, the PCA shows that protein content quantified by the modified Lowry method is inversely proportional to LMW_{OCD} and PS_{Dubois} results. This could indicate that a high content of protein corresponds to a low content of sugar and polysaccharides. It can be assumed that modified Lowry method quantifies all proteins and peptides (small proteins and protein degradation products) and is not suitable to clearly describe proteins

contained in biopolymers in biological treatments.

3.2 Comparison of colorimetric methods and LC-OCD for proteins and polysaccharides membrane retention estimation

In order to investigate the relevancy of modified Lowry and Dubois colorimetric methods to accurately quantify proteins and polysaccharides ; PS_{Dubois} and PN_{Lowry} concentrations in bulk supernatant (BS-MBR1) and permeate (P-MBR1) were measured and compared with the BP_{OCD} and LMW_{OCD} concentrations. Moreover, to study the impact of membrane filtration on PS_{Dubois} , PN_{Lowry} , BP_{OCD} (macromolecular proteins and polysaccharides) and LMW_{OCD} (low molecular weight proteins and polysaccharides), their concentrations in bulk supernatant (BS-MBR1) and permeate (P-MBR1) were measured and compared (Figure IV.4).

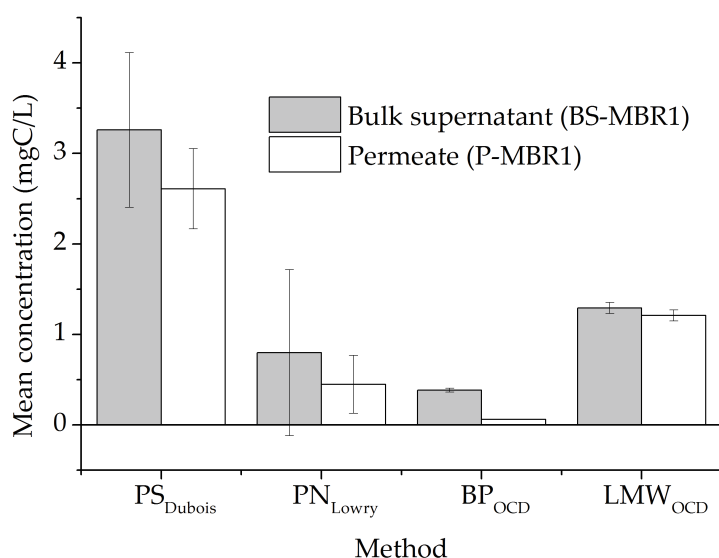


Figure IV.4 – Colorimetric methods (PS_{Dubois} , PN_{Lowry} and LC-OCD-OND (BP_{OCD} , LMW_{OCD}) for bulk supernatant (BS-MBR1) and permeate (P-MBR1) samples taken between May and November 2015 (n=16). Error bars correspond to relative standard deviation (RSD)

Membrane retention of BP_{OCD} is visible since the concentration in the permeate is about six times lower than in bulk supernatant. As the MWCO of a clean Kubota membrane has been calculated at about $3.5 \cdot 10^9 \text{Da}$ (average pore size of $0.2 \mu\text{m}$) and BP_{OCD} molecular weight has been estimated between $20,000 \text{Da}$ and $7.5 \cdot 10^{11} \text{Da}$ (corresponding to liquid chromatography conditions and to preliminary filtration at $1.2 \mu\text{m}$, respectively), BP_{OCD} retention could not only be explained by pore size exclusion. Indeed, other mechanisms probably occur such

as the presence of a dynamic membrane formed by a biofilm which drastically decreases global MWCO [17]. Other studies also identified the aggregation of small biopolymers leading to two possible phenomena : higher MW aggregates can block pores or accumulate on the membrane surface and are subject to less back diffusion from the membrane to the bulk solution [215].

LMW_{OCD} (< 350Da) are retained at only 6% by the membrane. This fraction is composed by slightly hydrophobic substances that could adsorb onto a hydrophobic membrane surface and pores (PVDF) explaining the small retention observed. But since LMW_{OCD} concentrations are relatively high in the permeate flux, it is shown that a major part of this fraction is not retained by the membrane.

As shown in Figure IV.3, PS_{Dubois} and LMW_{OCD} are strongly correlated. However, the mean concentrations obtained with the two methods are not the same : LMW_{OCD} concentrations are about half those of the PS_{Dubois} concentrations in BS-MBR1 and P-MBR1 samples. This could be explained by the fact that the Dubois method measures all polysaccharides including, oligosaccharides polysaccharides and simple sugars [26], while LMW_{OCD} only corresponds to low MW sugars. A high concentration of BP_{OCD} is expected to explain the high PS concentration measured by Dubois. However, Figures IV.3 and IV.4 show no correspondence between the two parameters. Hence, the Dubois method tends to overestimate the polysaccharide concentration in the studied samples. Moreover, it should be noticed that the relative standard deviations (RSD) of the Dubois measurements were calculated at 26% and 32% for BS-MBR1 and P-MBR1, respectively. This indicates that the Dubois method, which is a colorimetric method, is more sensitive to interferences, less consistent and less specific than the LC-OCD-OND analysis with a RSD calculated at 4.6% and 5.2% for BP_{OCD} and LMW_{OCD}, respectively.

The RSD values for PN_{Lowry} are even higher : around 115% and 71% for BS-MBR1 and P-MBR1 respectively, which provides additional evidence that colorimetric methods are very sensitive to interferences, especially in complex matrices like activated sludge and wastewater [27]. Thus, these results indicate that photometric methods can be used to have information about polysaccharide and protein composition, but must be used with care for an accurate determination of concentrations in biological matrices [154]. Moreover, colorimetric methods are limited in terms of information on the character of the organic matter

which could be relevant for membrane processes control.

3.3 Calibration of 3DEEM fluorescence for the determination of proteins

3.3.1 Calculation of protein concentration

As polysaccharides from BP do not fluoresce, dissolved protein contents were calculated to accurately describe the correlation between BP_{OCD} and $SMP\text{-like}_{3DEEM}$. All results below the quantification limit ($QL = 0.05\text{mgC/L}$) were excluded.

Table IV.3 – Protein and polysaccharide contents calculated from biopolymers determined by OCD and OND detection ($BP_{OCD/OND}$) for MBR1 samples

Samples	Sampling day	DOC	DON	N/C	Proteins	Proteins	Polysaccharides	Polysaccharides
		mgC/L	mgN/L	-	%	mgC/L	%	mgC/L
BS-MBR1	06-16-15	0.45	0.13	0.23	86	0.38	14	0.07
	06-23-15	0.30	0.08	0.26	77	0.24	23	0.06
	07-08-15	1.00	0.27	0.27	80	0.80	20	0.2
	09-07-15	0.23	0.07	0.30	89	0.21	11	0.02
	10-07-15	0.25	0.07	0.29	87	0.22	13	0.03
	11-03-15	0.13	0.04	0.30	91	0.12	9	0.01
P-MBR1	06-16-15	<QL	0.01	-	-	-	-	-
	06-23-15	<QL	-	-	-	-	-	-
	07-08-15	0.09	0.03	0.33	100	0.09	0	0.00
	09-07-15	0.08	0.02	0.25	75	0.06	25	0.02
	10-07-15	0.08	0.02	0.28	75	0.06	25	0.02
	11-03-15	<QL	-	-	-	-	-	-

Results listed in Table IV.3 show differences in terms of DOC, DON, Protein and Polysaccharide concentrations for samples taken before and after the membrane separation step, confirming the high membrane retention of BP measured by LC-OCD-OND ($BP_{OCD/OND}$). Furthermore, it can be seen from Table IV.3 that the BP fraction is mostly composed of proteins, on average 85% and 83% in BS and E samples, respectively. These high percentages can be due to high shear stress in the MBR, leading to the release of proteins from microbial flocs [208]. Furthermore, MBR1 was operated at relatively high SRT (up to 10 days), which could lead to low polysaccharide concentrations and substrate limitation for biomass activity and thus increase the production of cellular debris often associated with proteins. This phenomenon was amplified by the membrane retention that tends to concentrate slowly biodegradable macromolecules in the MBR. In Table IV.3, samples taken on 8 July 2015 show a complete retention of polysaccharides. However, samples taken on the 7 September and 7 October 2015 correspond to a preferential retention of proteins with an enrichment of polysaccharides in the permeate. These observations could be explained by membrane fouling

between two cleaning stages and SRT changes during the summer period [216].

3.3.2 Correlation between proteins determined by LC-OCD-OND and 3DEEM

Since a strong correlation between proteins from $BP_{OCD/OND}$ and $SMP\text{-like}_{3DEEM}$ was found with the PCA performed on MBR1 samples (Figure IV.3), $SMP\text{-like}_{3DEEM}$ were plotted against Proteins from $BP_{OCD/OND}$ (Figure IV.5) to confirm this trend.

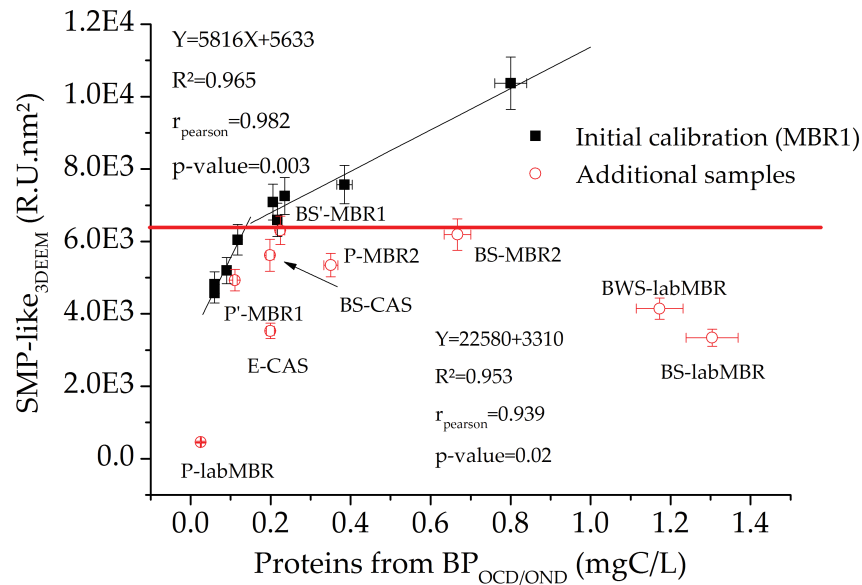


Figure IV.5 – $SMP\text{-like}_{3DEEM}$ versus proteins from $BP_{OCD/OND}$ concentration from MBR1 samples ($n=9$) (black squares) and additional samples from MBR1, MBR2, CAS and *lab*-MBR (red circles). BS, P, E and BWS correspond to bulk supernatant, permeate, effluent and backwash solution, respectively

Figure IV.5 shows two linear trends ; for fluorescence intensities below 6300 R.U.nm², the slope is equals to 22580 R.U.L.nm²/mgC ($R^2 = 0.953$) and for fluorescence intensities above 6300 R.U.nm², the slope is equals to 5816 R.U.L.nm²/mgC ($R^2=0.965$). The Pearson coefficients and p-values are equal to 0.982 and 0.003 respectively for the low range, and 0.953 and 0.02 respectively for the high range, confirming that the correlations are significant. This shows that for MBR1, fluorescence within the SMP region correlates well with the protein content. The fact that the slope is not constant over the whole range could be explained by the fact that fluorescence can be masked by other compounds, especially humic-substances that are present in higher concentration (Figure IV.5) [107]. Hence, according to the fluorescence range, Eq. IV.6 and Eq. IV.7 should be used (Table IV.4) :

In addition, samples from MBR2, CAS and labMBR were also plotted in Figure IV.5 to

validate the relevance of the correlation for other systems. Eq. IV.6 and Eq. IV.7 were used to calculate the Proteins from BP using SMP-like_{3DEEM} and the values were compared to the proteins determined from BP_{OCD/OND} in Table IV.5.

Table IV.4 – Equations for Proteins from BP concentration calculation in low and high fluorescence intensity, as determined for MBR1 (Figure IV.5)

Fluorescence intensity range (R.U.nm ²)	Equation for calculation of Proteins from BP concentration (mgC/L)
3500 < SMP-like _{3DEEM} < 6300	$[Proteins\ from\ BP] = \frac{SMP - like_{3DEEM} - 3310}{22580}$ (IV.6)
6300 < SMP-like _{3DEEM} < 11400	$[Proteins\ from\ BP] = \frac{SMP - like_{3DEEM} - 5633}{5816}$ (IV.7)

Table IV.5 – Comparison of experimental and prediction of Proteins from BP data for additional samples

Sample	Proteins as determined by BP _{OCD/OND} analysis (mgC/L)	SMP-like _{3DEEM} (R.U.nm ²)	Proteins calculated from 3DEEM using Eq. I.6 and Eq. I.7 (mgC/L)	RSD %
BS'-MBR1	0.22	6308	0.12	42
E'-MBR1	0.11	4934	0.07	31
BS-MBR1	0.67	6194	0.13	95
E-MBR1	0.35	5349	0.09	84
BS-CAS	0.20	5620	0.10	47
E-CAS	0.20	3528	0.01	128
BS-labMBR	1.30	3341	0.00	141
E-labMBR	0.03	458	-	-
BWS-labMBR	1.17	4143	0.04	132

Results show that correlations established with MBR1 samples enable proteins in the additional samples from MBR1 with a RSD of about 31-42% to be predicted. Differences could be explained by the low loading rate and temperatures during the winter season which lead to lower biomass activity and thus lower protein and SMP production within the MBR [96]. However, the prediction is still interesting to perform with the quick analysis of proteins in samples using 3DEEM directly. For samples from other systems, the comparison between experimental values of Proteins from BP_{OCD/OND} and calculated values from SMP-like_{3DEEM} shows RSD values which are higher than 47% (Table IV.5). This implies that the DOM composition could be substantially different according to treatment systems, feedwater composition and operating conditions [207]. Hence, to apply this method to different systems, a

new calibration would be mandatory.

3.4 3DEEM fluorescence calibration for humic-like substances

Humic Substances (HS) and Building Blocks (BB) compounds contain fluorophores observed in FA-like and HA-like 3DEEM regions [217]. Hence, those two regions were combined and a new combined fluorescence region was defined, called FA+HA-like_{3DEEM}. Additionally, a new area factor MF(FA+HA-like) was calculated with Eq. IV.4. The values of FA+HA-like_{3DEEM} were plotted versus HS+BB_{OCD} in Figure IV.6.

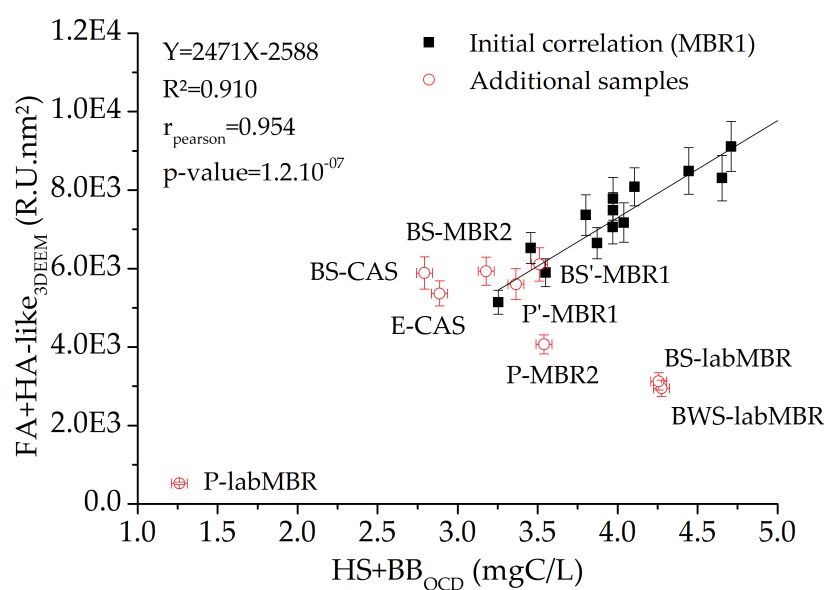


Figure IV.6 – FA+HA-like_{3DEEM} versus HS+BB_{OCD} concentration from MBR1 samples (n=14) (black squares) and additional samples from MBR1, MBR2, CAS and *lab*-MBR (red circles). BS, P, E and BWS correspond to bulk supernatant, permeate, effluent and backwash solution, respectively

Figure IV.6 shows a good linear correlation between FA+HA-like_{3DEEM} and HS+BB_{3DEEM} for MBR1 with a slope of 2471 R.U.L.nm²/mgC ($R^2 = 0.910$) over the entire concentration range. The Pearson coefficient (r) and the p -value equal to 0.954 and $1.2 \cdot 10^{-7}$, respectively, confirm that the correlation is significant. As shown in Table IV.6, humic-like substances in bulk supernatant and permeate from additional samples are of the same order of magnitude, which is explained by the low MW of humic-like substances (around 1000 Da) which is 106 times smaller than the MWCO of MBR1 [133], [22]. Furthermore, it should be noticed that the concentration range is higher for humic-like substances than for proteins, which is clearly observed on LC-OCD-OND chromatograms (Figure IV.2). A large part of these humic-like substances is considered to be of microbial origin [96] and these compounds

could have an important role in fouling mechanisms, especially irreversible fouling, due to their high hydrophobicity[132]. Hence, FA-like and HA-like regions are required to describe the HS+BB fluorophores in MBR1 accurately. FA+HA-like_{3DEEM} could be chosen as a pseudo-quantitative indicator of the HS+BB fraction. HS+BB organic carbon concentration can be estimated from FA+HA-like_{3DEEM} using Eq. V.4

$$[HS + BB] (mgC/L) = \frac{FA + HA - like_{3DEEM} + 2588}{2471} \quad (IV.8)$$

Additional data from MBR2, CAS and labMBR are shown in Figure IV.6 in order to check and validate the relevance of this correlation. Theoretical HS+BB concentrations have been calculated from FA+HA-like_{3DEEM} using Eq. V.4 and are presented in Table IV.6.

Table IV.6 – Comparison of HS+BB determined from LC-OCD and calculated from FA+HA-like_{3DEEM}

Sample	HS+BB _{OCD} (mgC/L)	FA+HA-like _{3DEEM} (R.U.nm ²)	HS+BB calculated from 3DEEM using Eq. I.8 (mgC/L)	RSD %
BS'-MBR1	3.51	6108	3.52	0.2
E'-MBR1	3.18	5934	3.45	6
BS-MBR1	3.36	5603	3.31	1
E-MBR1	3.54	4067	2.69	19
BS-CAS	2.79	5888	3.43	15
E-CAS	2.89	5365	3.22	8
BS-labMBR	4.27	2948	2.24	44
E-labMBR	1.26	525	1.26	0
BWS-labMBR	4.26	3124	2.31	42

The calculation of HS+BB concentration using Eq. V.4 shows good accuracy (RSD < 6%) for MBR1 samples taken at a different period of the year and for E-labMBR, and satisfactory accuracy (RSD < 19%) for other WWT systems (CAS and MBR). Bulk Supernatant (BS) and BackWash Samples (BWS) from the lab-MBR show lower prediction accuracy (RSD > 42%) of humic-like substances using 3DEEM integration. The high concentrations of humic-like substances found in labMBR samples confirm that microbial humic-like substances are produced within the MBR by microbial activity since the synthetic feedwater of this pilot did not contain any natural humic substances. These results prove the relevance of studying humic substances in MBR and confirm that 3DEEM could be applied to perform quick pseudo-quantitative analysis of humic-like substances. Therefore, this method is considered suitable for on-line applications.

3.5 Examples of application for FA+HA-like_{3DEEM} and SMP-like_{3DEEM} determination

The correlations described in sections 3.3 and 3.4 can be used to calculate membrane retentions of proteins (BP_{OCD/OND}) and humic-like substances (HS+BB_{OCD}) using the integration of bulk supernatant and permeate sample 3DEEM analysis (FA+HA-like_{3DEEM} and SMP-like_{3DEEM}). These parameters are of major concern in full scale membrane systems since an online determination of these parameters could help operators to prevent irreversible membrane fouling and thus permit an increase in membrane life time. Figure IV.7 shows the retention of proteins and humic-like substances calculated from LC-OCD-OND analysis (Measured BP_{OCD} and HS+BB_{OCD}) and calculated from mathematical correlations (Eq. IV.6, Eq. IV.7 and IV.8) based on 3DEEM analysis (estimated FA+HA-like_{3DEEM} and SMP-like_{3DEEM}) for different days of MBR1 operation.

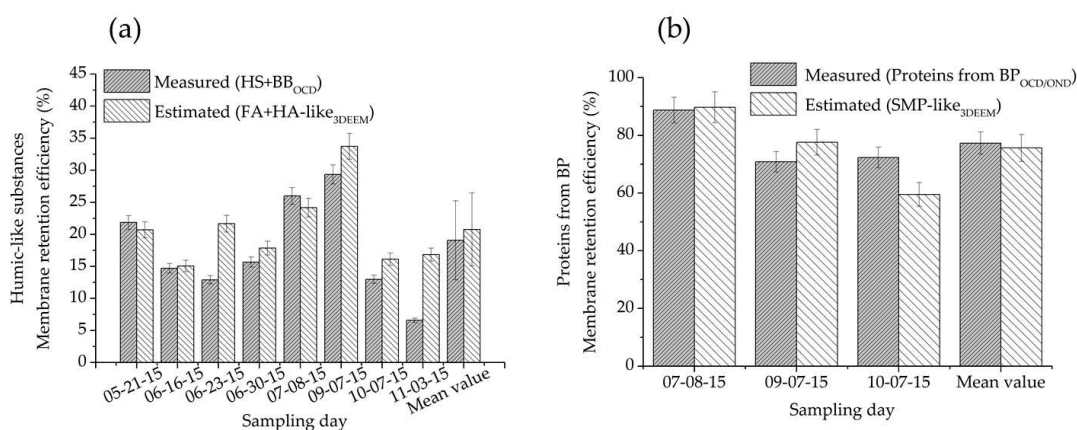


Figure IV.7 – MBR1 retention efficiencies of a) humic-like substances determined by LC-OCD (HS+BB_{OCD}) and calculated from FA+HA-like_{3DEEM} and b) Proteins from BP_{OCD/OND} and Proteins from BP concentration calculated from SMP-like_{3DEEM}

Figure IV.7a) shows that the membrane retention of humic-like substances is well predicted by the correlation established within this study. Indeed, the average difference between the retention efficiency results obtained for HS+BB_{OCD} and FA+HA-like_{3DEEM} is low (< 7%). Thus, FA+HA-like_{3DEEM} is an interesting indicator for the online estimation of humic-like substances in WWT systems and especially in membrane separation processes such as MBR.

Due to their low MW, humic-substances are expected to pass through the membrane. But, interestingly, humic-like substances are retained at around 20% by a flat sheet membrane with an average pore size of 0.2 μm, which is consistent with previous studies [185]. Several explanations exist for the higher rejection of humic substances and have been reported

by several research groups. In the first place, due to their high hydrophobicity, humic-like substances are known to adsorb onto the membrane which can reduce the size of membrane micropores [132]. They can also interact with the filtration cake formed by biopolymers [145]. Furthermore, increased rejection can take place due to the growth of a dynamic additional membrane (biofilm) that could decrease global MWCO [17]. Finally, humic acids are known to form micelles leading to aggregate formation having a much larger size than the individual molecules [137].

Figure IV.7b) also shows that the retention efficiencies calculated with BP_{OCD} and SMP -like_{3DEEM} are similar, with an average difference between the two methods of 4%. Hence, 3DEEM can be used to estimate membrane retention efficiency of proteins in MBR samples in a quick and accurate way. Proteins are retained at around 77% due to their high MW or their aggregation leading to cake formation [145]. The results above show that 3DEEM fluorescence allows a reliable calculation of membrane rejections for proteins and humic-like substances. This method can be used for a quick or on-line determination of membrane specific foulants rejections in MBR systems, which could be a first step to develop a valuable tool for process control and for further studies on the fouling behavior of DOM in full-scale MBR.

4 Conclusions

- Within this study, an original method based on 3DEEM integration through the volume of fluorescence ($\Phi(i)$) was proposed to investigate DOM composition in real MBR for urban wastewater treatment. This rapid determination could be very useful for monitoring online membrane fouling and thus, better control MBR process.
- Conventional colorimetric methods to measure proteins and polysaccharides concentration (modified Lowry and Dubois) must be used with care since they present a great deal of analytical deviation and interference in real biological matrices.
- 3DEEM and LC-OCD-OND provide overlap data that can be correlated even if these methods are based on different analytical principles : fluorescence properties and size separation combined with organic carbon and nitrogen detection.
- Mathematical correlations between 3DEEM and LC-OCD-OND data have been established for proteins and humic-like substances.

- By comparing calculated and measured results for different WWT systems, this method was found to be sensitive to the WWT system, scale and operating conditions. Hence, depending on the studied systems DOM composition would be different and new calibration will be required before using 3DEEM as a pseudo-quantitative method.
- The average difference of membrane rejection efficiencies calculated with LC-OCD-OND and 3DEEM is around 7% and 4% for protein- and humic-like substances, respectively. Hence, 3DEEM is an innovative, quick and accurate method to study fouling behavior of DOM. This can potentially be used for on-line applications and is a promising method for real-time fouling control of MBRs.

5 Implications et perspectives

Cette étude a permis de montrer que les méthodes colorimétriques de Dubois et Lowry modifiée ne sont pas adaptées au suivi des polysaccharides et des protéines dans un BâM, dû à la complexité de la matrice. Elle a également mis en évidence l'intérêt de combiner les analyses de LC-OCD-OND et de 3DEEM pour l'étude de la DOM présente dans le surnageant et le perméat d'un BâM de la station d'épuration de LGM. Ainsi, il est possible de quantifier les protéines issues des biopolymères (Proteins from BP) et les substances humiques (HS+BB), contenues dans ces deux matrices, en utilisant les calibrations établies sur les volumes de fluorescence SMP-like_{3DEEM} et FA+HA-like_{3DEEM}. Ces calibrations sont valables tout au long de l'année malgré les changements de conditions opératoires liées aux variations saisonnières, amplifiant leur robustesse.

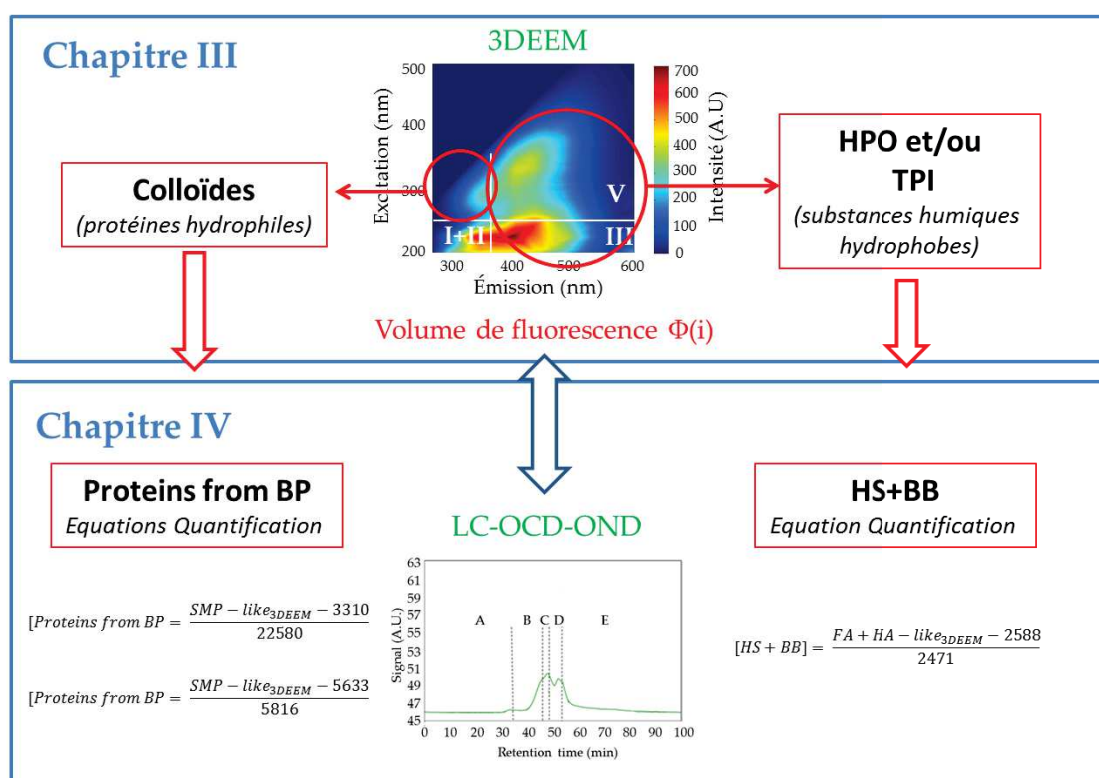


Figure IV.8 – Validation des indicateurs de fluorescence spécifiques des fractions de DOM extraites à STEP de La Grande-Motte et corrélations de quantification

Au-delà d'une information quantitative liée au volume des pics de fluorescence, les fluorophores observés dans les spectres de 3DEEM sont également reliés à la taille et l'hydrophobicité, comme ce qui a été observé Chapitre III et confirmé par cette comparaison avec la LC-OCD-OND. Ainsi, les molécules qui contiennent des fluorophores de type SMP-like peuvent

être des indicateurs de colmatage externe, tandis que celles contenant des fluorophores de type FA+HA-like sont des indicateurs de colmatage interne. Ces observations font de la 3DEEM un outil particulièrement adapté au suivi de la DOM en donnant une information quantitative, de taille et d'hydrophobicité, adaptée à l'étude du colmatage, mais également de l'origine de la DOM. Néanmoins, les corrélations établies sont site-spécifiques, car les concentrations estimées par 3DEEM pour les échantillons prélevés dans d'autres systèmes (BàM de Baillargues, CAS de Saint Clément de Rivière et boues activées d'un pilote BàM de laboratoire), montraient des différences majeures avec les résultats de LC-OCD-OND, en particulier pour les protéines issues des biopolymères. Ceci est sans doute une conséquence de la diversité de la DOM observée entre différents systèmes [28], nécessitant ainsi la mise en place et la vérification de nouvelles calibration pour chaque nouveau système étudié.

Toutefois, cette méthode de quantification par 3DEEM peut être appliquée pour le suivi de la DOM à LGM qui est une station d'épuration subissant des variations saisonnières importantes. Ceci en fait un cas d'étude particulièrement intéressant pour le suivi de la DOM. En effet, les variations des paramètres opératoires subies par la biomasse active peuvent avoir un impact considérable sur la concentration et la composition de la DOM, et par conséquent sur les propriétés colmatantes de ses composés (Chapitre I). Dans le Chapitre II, il a été avancé que le contrôle de la présence des différentes fractions pourraient être une façon de maîtriser le colmatage membranaire. Ainsi, le contrôle du colmatage pourrait passer par un contrôle automatisé des conditions opératoires les plus influentes sur la DOM, c'est-à-dire celles pour lesquelles un lien clair avec l'occurrence de la DOM aurait été établi et compris. C'est dans cette perspective qu'une étude des liens entre les paramètres opératoires, la biomasse active et la DOM a été réalisée Chapitre IV.

Chapitre V

**New insight into the fate and fouling
behavior of bulk DOM in a full-scale
MBR for domestic wastewater
treatment**

Objectifs et approches du Chapitre V

L'objectif de ce Chapitre consistait à mettre en évidence les liens existants entre les paramètres opératoires et la présence de la DOM. En effet, celle-ci est principalement sécrétée lors de l'activité bactérienne qui dépend fortement des conditions opératoires. Par conséquent, les calibrations de 3DEEM réalisées dans le Chapitre IV ont été utilisées dans le Chapitre V pour quantifier les Proteins from BP et les HS+BB, afin de suivre leurs concentrations dans le surnageant des boues activées et le perméat de la STEP de LGM au cours du temps.

Cette étude a été menée dans le cadre du projet EnerMod (Agence de l'Eau, SAUR, Communauté d'Agglomération de l'Etang de l'Or) permettant d'avoir accès sans contraintes à la STEP de la Grande-Motte, ainsi qu'aux données d'autosurveillance et de fonctionnement. Des analyses régulières ont pu être réalisées toute l'année, pendant près de 488 jours, de façon à suivre les variations des paramètres opératoires, de la biomasse active et de la DOM au cours du temps et de les mettre en regard les unes par rapport aux autres. Ceci a été fait dans l'objectif de conforter l'utilisation de la 3DEEM (suite à la calibration) pour le suivi en ligne de la DOM dans les Bàm, dans le cadre de l'optimisation de la filtration membranaire. En effet, le but de la mise en place de ces indicateurs serait de pouvoir limiter la présence de composés influençant le colmatage, tels que les Proteins from BP ou les HS+BB, en asservissant les paramètres opératoires qui influencent le plus sur leur composition et concentration.

New insight into the fate and fouling behavior of bulk Dissolved Organic Matter (DOM) in a full-scale membrane bioreactor for domestic wastewater treatment

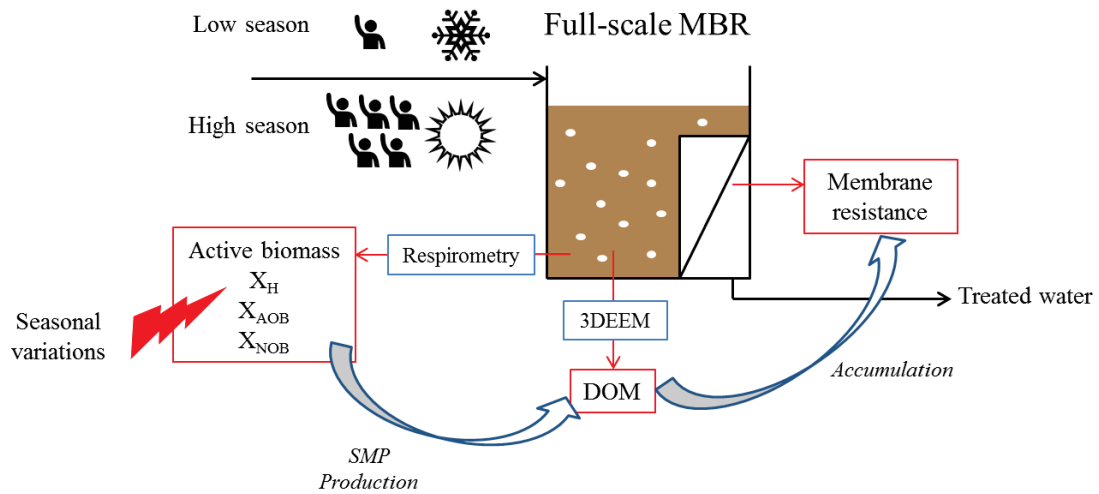
Céline Jacquin, Noémie Gambier, Geoffroy Lesage, Marc Heran

IEM (Institut Européen des Membranes), UMR 5635 (CNRS-ENSCM-UM), Université de Montpellier, Place E. Bataillon, F- 34095, Montpellier, France.

Abstract

Dissolved Organic Matter (DOM) and active biomass concentrations from a full-scale membrane bioreactor (MBR) treating domestic wastewater, located in a tourist area were investigated during a period of 488 days. Bulk DOM compounds are known to be major membrane foulants in MBR. Active biomass activity, which depends on operating parameter variations, is a major source of DOM, due to soluble microbial products (SMP) secretion. Thus, to establish the link between DOM, active biomass concentration, operating conditions, and later membrane fouling, heterotrophic and autotrophic bacteria were first quantified using respirometric measurements. Comparing their evolution with operating parameters using Principal Component Analysis (PCA), SRT and temperature were identified as the parameters with most impact on active biomass concentrations. In parallel, Proteins from Biopolymers and humic substances (HS+BB) concentrations were quantified using the 3DEEM pseudo-quantitative method. Active biomass and DOM concentration fluctuations were similar, confirming that DOM was mainly constituted by SMP produced by the active biomass in the full-scale MBR, and consequently dependent on SRT and temperature modifications. Interestingly, HS+BB were produced on average eight times faster than Proteins from BP and therefore accumulated faster into the membrane despite their low membrane rejection. Consequently, large amounts of HS+BB can accumulate in the long term MBR operation, modifying the initial membrane properties. The membrane resistance evolution was however mainly dependent on Proteins from the accumulation of Biopolymers that showed no fouling propensity modifications despite seasonal variations. As a consequence, this study strongly emphasized the interest of using the 3DEEM pseudo-quantitative method for on-line 3DEEM application in order to follow the full-scale MBR process and membrane fouling.

Graphical abstract



1 Introduction

Membrane fouling is a major limitation for the widespread application of Membrane Bioreactors (MBR) since it reduces wastewater treatment plant (WWTP) productivity and, in the long term, damages the integrity of the membrane [31], [39]. Numerous studies have focused on membrane foulants and the identification of fouling mechanisms to understand and control this phenomenon [132], [29], [16]. As the activated sludge is a very complex matrix in contact with the membrane, fouling mechanisms in MBR are difficult to understand [218]. However, bulk supernatant colloidal and soluble organic fraction, commonly referred to as bulk Dissolved Organic Matter (DOM), has been identified as a major foulant [206]. Deposition mechanisms are mainly dependent on size and particulate fraction is easily removed through mechanical actions (such as air scouring, backwashing or the use of mechanical cleaning particles) [31], [219]. Thus, DOM, which remains in the low shear stress area close to the membrane surface, is more prone to generate significant fouling [20], [21].

Bulk DOM is defined as a complex and heterogeneous mixture of three different classes of compounds classified according to their origins; Natural Organic Matter (NOM), Soluble Microbial Products (SMP) and xenobiotic micropollutants [28], [220]. However, due to intense biochemical processes in activated sludge, SMP are usually defined as main DOM compounds [79], [96], [29]. Two SMP classes can be distinguished; utilization-associated

products (UAP) associated with substrate uptake and biomass growth, and biomass-associated products (BAP), associated with biomass decay [221]. SMP dynamic changes therefore reflect the active biomass physiological and dynamic state.

Following both active biomass and DOM, is of major interest to further understand SMP production and its consequences on membrane fouling. Indeed, one of the major challenges in the study of membrane fouling is to describe the formation of membrane foulants [16]. This approach is necessary to implement strategies for fouling episode anticipation [114]. Active biomass is usually followed using MLVSS values [222], [223]. However, some studies found out that MLVSS is not an appropriate indicator to properly quantify active biomass. Indeed, Pajoum Shariati *et al.* (2013) [224], pointed out different biomass activities for similar MLVSS values. Respirometric measurements can be used to quantify physiological activity [225]. Combined with inhibitor injection, heterotrophic and autotrophic biomass activities can be assessed [187]. However, no direct quantification was performed using respirometric measurements. Concerning DOM, it is a complex mixture but mostly composed of polysaccharides, proteins and humic substances [84], [113], [81]. To quantify these constituents, classical colorimetric methods are often used [26], [24]. Nevertheless, they were found not to be relevant for DOM study due to important interferences [88]. Other methods such as three dimensional excitation emission matrix fluorescent (3DEEM) are increasingly employed to follow DOM evolution in wastewater systems [180], [4]. A recent study also highlighted that three dimensional excitation emission matrix fluorescence (3DEEM) can be used for Proteins from Biopolymers and humic substances and building blocks (HS+BB) quantification and can potentially be used as an on-line indicator to describe more deeply DOM fate and behavior [6].

Thus, to better understand the MBR process and fouling phenomena, a combination of active biomass and DOM characterization methods may be considered [226]. Indeed, active biomass, and consequently bulk DOM, depend on numerous factors ; feed wastewater, HRT, SRT, temperature, cleaning procedures, etc [27], [84], since activated sludge is constituted of an ecosystem constantly adapting to environmental conditions [150]. From this statement, many studies tried to identify the influence of operating parameters or feeding conditions on DOM composition. While comparing bulk DOM from MBR treating industrial wastewater and MBR treating urban wastewater, Shen *et al.* (2012) [113] identified noteworthy

differences. Other studies also identified differences depending on the studied system due to fluctuations in operating conditions or according to the season [59], [81], [114].

For fouling prediction, different authors identified links between DOM and membrane fouling indicators [170], [171], [227], [172], [228]. For example, Rosenberger *et al.* (2006) [192] observed a linear correlation between polysaccharides concentrations in the bulk supernatant and the membrane fouling rate (dR/dt). However, no direct link between DOM and fouling at full-scale is available for all MBR. In order to better anticipate and control fouling episodes, it is of major interest to clearly identify the possible links between active biomass and DOM, as well as DOM fouling culprits [96], [132].

From these statements, this study focused on the DOM fouling behavior in a full-scale MBR subject to seasonal variations and important transitory periods, due to its location in a summer tourist area. MBR mixed liquor and permeate were sampled to quantify the different active biomass populations and investigate their link with operating conditions. DOM composition and variations were then determined using 3DEEM pseudo-quantitative method and compared to active biomass variations. Using 3DEEM it was possible to calculate DOM production rates and their accumulated mass per membrane unit in the full-scale MBR operation. This original approach was used to evaluate the interest of using 3DEEM monitoring with pseudo-quantitative analysis, in order to further understand and control DOM membrane fouling in domestic WWTP.

2 Material and Methods

2.1 Studied MBR and samples

A full scale domestic WWTP equipped with MBR, located close to Montpellier, France, was studied from March 2015 to July 2016 (488 days). The plant was started in 2012 and was designed to treat 13,000m³/d of domestic wastewater. The WWTP was performing biological nitrogen removal (nitrification/denitrification) and biological dephosphatation.

The WWTP is located in a tourist area where the population is sparse from October to May, referred to as the low season (LS). During LS, the plant receives about 8,000 person equivalents (p.e) and the average inlet flow rate is recorded at $2,230 \pm 590$ m³/d. The population increases slowly during the spring and sharply in the beginning of summer, marking the

high season (HS) which takes place from June to September. During HS, the WWTP receives up to 60,000 p.e. and the average flow rate at the inlet was recorded at $3,953 \pm 1,274 \text{ m}^3/\text{d}$. This WWTP was therefore designed with two biological reactor lines equipped with a common membrane separation step consisting in four MBR tanks : one biological reactor line is used during LS and the two biological reactors lines are in use during HS. Table V.1 gives the characteristics of biological reactors during both LS and HS.

Table V.1 – Characteristics of WWTP biological reactors

Reactors	Volume for one biological treatment line (LS) (m ³)	Volume for two biological treatment lines (HS) (m ³)
Anaerobic	600	1200
Anoxic	1000	2000
Aerobic	2850	5700
Membranes	330 (x4)	330 (x4)
Total	5770	10220

Between the LS and HS periods, transitory periods (TR) can be observed, which corresponds to the progressive start-up of the second line before HS or its progressive closing after HS. The four MBRs were equipped with KUBOTA Submerged Membrane Unit®(SMU RW400) (KUBOTA, Japan) flat sheet microporous membranes made of chlorinated polyethylene (total surface of 16,240m²), with an average pore size of 0.2µm. For this study, only one of the four MBR was sampled. Hence, activated sludge samples and permeate samples (P_{MBR}) were regularly taken in the studied MBR tank and MBR outlet, respectively. AS samples were then filtrated through a 1.2µm filter to collect bulk supernatant (BS_{MBR}). A chemical cleaning solution was also sampled in June 2016 during the membrane chemical cleaning stage (with HCl) and was named : chemical cleaning solution MBR (CCS_{MBR}).

Table V.2 – Samples name according to the sampling points

Bulk supernatant	Permeate	Chemical cleaning solution
BS _{MBR}	P _{MBR}	CCS _{MBR}

2.2 Classical analytical methods

Activated sludge temperature was measured *in-situ* prior sampling, using a conductimeter equipped with a temperature probe (VWR, LF 330/SET). After each sampling period, mixed liquor suspended solids (MLSS) and volatile suspended solids (MLVSS) were measured according to standard methods (APHA, 2005).

2.3 3DEEM fluorescence spectroscopy

3DEEM analyses were performed in duplicate using a Perkin-Elmer LS-55 spectrometer (USA). To avoid the inner filter effect, the sample was diluted with pure water (Milli-Q, Millipore Co. Ltd) with a dilution ratio determined after measurements at successive dilution ratios [4]. Excitation and emission wavelengths were set at 200-500nm and 280-600nm, respectively [3]. The scan speed was fixed to 1000 nm/min and the increment to 2nm, while slit width was fixed at 10 nm in excitation and emission. All spectra were Raman corrected using a Milli-Q water blank following Zepp *et al.* (2004) procedure [184]. Examples of BS_{MBR} and P_{MBR} fluorescence corrected spectra are visible in Figure V.1.

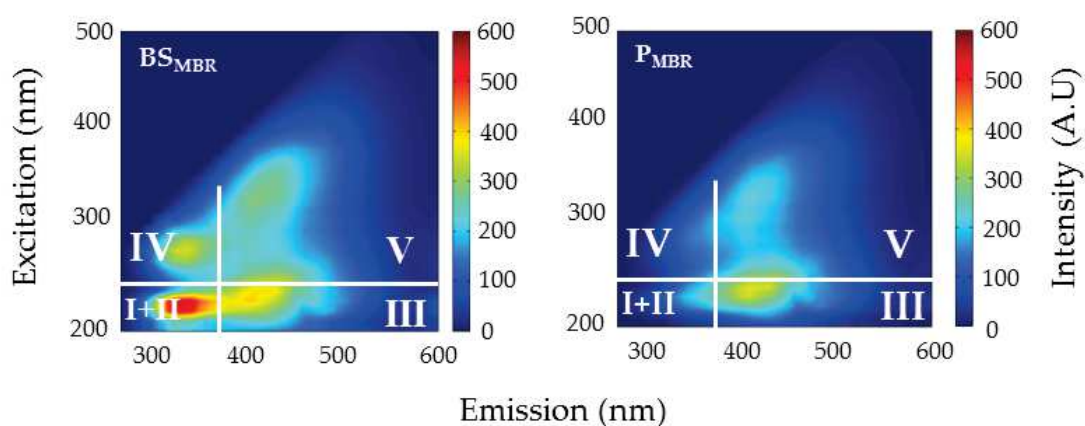


Figure V.1 – Fluorescent footprint of DOM present in the bulk supernatant (BS_{MBR}), permeate (P_{MBR}) at day 458. Regions I+II, III, IV and V, correspond to the Prot1+2-like, fulvic-like, SMP-like and humic-like fluorophores, respectively [3]

Spectra are divided into four areas defined by Chen *et al.* (2003) [3], corresponding to the different group of fluorophores described in Table V.3.

Table V.3 – 3DEEM spectra regions and abbreviations

Region	Associated fluorophore	Excitation/Emission wavelengths	Volume of fluorescence abbreviation
I+II	Prot1+2-like	Ex = 200-250nm Em = 280-380nm	Prot1+2-like _{3DEEM}
III	FA-like	Ex = 200-250nm Em = 380-600nm	FA-like _{3DEEM}
IV	SMP-like	Ex = 250-350nm Em = 280-380nm	SMP-like _{3DEEM}
V	HA-like	Ex = 250-500nm Em = 380-500nm	HA-like _{3DEEM}

As previously observed in Jacquin *et al.* (2017) [6], DOM from BS_{MBR} was mostly com-

posed of molecules having fluorophores in the four regions, while P_{MBR} fluorescence was mostly observed in Regions III and IV characterized by humic substances molecules (fulvic-like and humic-like) (Figure V.3 and Chapter IV). Moreover, fluorescence intensities were significantly lower in permeate. To estimate the fluorescent DOM retained by the membrane, a subtraction was performed between the spectrum obtained from BS_{MBR} samples and P_{MBR} samples to generate a new spectrum called R_{MBR} . This method allows a quick visual estimation of DOM which was retained by the membrane and could therefore be implied in fouling mechanisms.

From DOM spectra it is possible to calculate Proteins from Biopolymers (BP) and HS+BB (humic substances and building blocks) concentrations in mgC/L by calculating the Volume of fluorescence ($\Phi(i)$) (Eq. V.1) and using Eq. V.2, Eq. V.3 and Eq. V.4 (Table V.4).

$$\Phi(i) = MF(i) \sum_{ex} \sum_{em} I(\lambda, ex\lambda em) \Delta\lambda_{ex} \Delta\lambda_{em} \quad (\text{V.1})$$

$MF(i)$ is a multiplication factor to compare the $\Phi(i)$ measured in the different regions despite their different measured area, $\Delta\lambda_{ex}$ is the excitation wavelength interval (taken as 2nm), $\Delta\lambda_{em}$ is the emission wavelength interval (taken as 0.5nm) and $I(\lambda_{ex}, \lambda_{em})$ is the fluorescence intensity at each excitation-emission pair normalized by the Milli-Q water Raman peak area (Raman units) [211].

Table V.4 – Equations used for Proteins from BP and HS+BB concentration calculation using the volume of fluorescence from SMP-like and FA+HA-like regions, respectively [6]

Volume of fluorescence range (R.U.nm ²)	Equation for calculation of DOM concentrations (mgC/L)
3500 < SMP-like _{3DEEM} < 6300	$[Proteins \text{ from } BP] = \frac{SMP - like_{3DEEM} - 3310}{22580} \quad (\text{V.2})$
6300 < SMP-like _{3DEEM} < 11400	$[Proteins \text{ from } BP] = \frac{SMP - like_{3DEEM} - 5633}{5816} \quad (\text{V.3})$
No specific range for FA+HA-like _{3DEEM}	$[HS + BB] (mgC/L) = \frac{FA + HA - like_{3DEEM} + 2588}{2471} \quad (\text{V.4})$

2.4 Active biomass concentration measurements

To measure microbial community respirometric activity, AS samples were placed in an aerated tank for 24h without any external substrate input, to ensure an endogenous state. AS were then transferred into a sealed bottle (250mL), where the dissolved oxygen was monitored using a Dissolved Oxygen (DO) sensor (Oxi 340i, WTW, USA) to calculate the oxygen uptake rate (OUR). The first step consisted of the endogenous OUR measurement (OUR_{tot}), corresponding to the total active biomass respirometric activity. Afterwards, 2mL of $NaClO_3$ (Nitrite Oxidizing bacteria or NOB inhibitor, 280.8g/L) were added to the sealed bottle to measure heterotrophic bacteria and Ammonium oxidizing bacteria (AOB) respirometric activity (OUR_{H+AOB}). The same procedure was used to determine heterotrophic bacteria and NOB respirometric activity (OUR_{H+NOB}) injecting 0.4mL N-Allylthiourea (6.25g/L) (AOB inhibitor) instead of $NaClO_3$. From the calculated OURs, according to the ASM3 model and using Eq. V.5, Eq. V.6 and Eq. V.7 it was possible to estimate heterotrophic bacteria, AOB and NOB concentrations ; X_H , X_{AOB} and X_{NOB} , respectively [229], [230].

$$X_H = \frac{OUR_{H+NOB} + OUR_{H+AOB} - OUR_{tot}}{(1 - f_{xi})b_H \times 1.42} \quad (V.5)$$

$$X_{AOB} = \frac{OUR_{tot} - OUR_{H+NOB}}{(1 - f_{xi})b_{AOB} \times 1.42} \quad (V.6)$$

$$X_{NOB} = \frac{OUR_{tot} - OUR_{H+AOB}}{(1 - f_{xi})b_{NOB} \times 1.42} \quad (V.7)$$

OUR_{tot} = Endogenous OUR of all active biomass (mgO₂/L/h)

OUR_{H+NOB} = OUR from heterotrophic bacteria and NOB respiration (mgO₂/L/h)

OUR_{H+AOB} = OUR from heterotrophic bacteria and AOB respiration (mgO₂/L/h)

f_{xi} = Inert DOC fraction generated by biomass lysis (=0.2)

b_H = Death coefficient of heterotrophic bacteria (=0.2 1/d)

b_{AOB} = Death coefficient of AOB (=0.15 1/d)

b_{NOB} = Death coefficient of NOB (=0.15 1/d)

X_H = Heterotrophic bacteria concentration (g/L)

X_{AOB} = AOB concentration (g/L)

X_{NOB} = NOB concentration (g/L)

The total active biomass concentration (X_{tot}) was then calculated using the following equation (Eq. V.8) :

$$X_{tot} = X_H + X_{AOB} + X_{NOB} \quad (V.8)$$

2.5 DOM production rate and membrane accumulation calculation

To compare the production rates of Proteins from BP and HS+BB in the bulk supernatant, their production rate ratios were calculated using Eq. V.9 [231].

$$\frac{r_{HS+BB}}{r_{Proteins\ from\ BP}} = \frac{S_{HS+BB}}{S_{Proteins\ from\ BP}} \frac{(1 - MR_{HS+BB})C_F + 1}{(1 - MR_{Proteins\ from\ BP})C_F + 1} \quad (V.9)$$

With :

- r = Production rate of DOM compounds (HS+BB or Proteins from BP) (mg/L/h)
- MR = Rejection rate of DOM compounds (HS+BB or Proteins from BP) (%)
- S = HS+BB or Proteins from BP (mgC/L)
- C_F = Concentration factor (SRT/HRT)

HS+BB and Proteins from BP accumulation onto the membrane were calculated over time using Eq. V.10.

$$Accumulation\ (g/m^2) = \sum_{CC_n}^{CC_{n+1}} \frac{S \times MR \times Q_p}{A} \times dt \quad (V.10)$$

With :

- $Accumulation$ = HS+BB or Proteins from BP accumulated mass per membrane unit (g/m²)
- S = HS+BB or Proteins from BP concentration (g/m³)
- MR = Membrane retention (%)
- Q_p = Permeate flux (m³/d)
- A = Membrane surface (m²)
- dt = Time step for accumulation calculation (d)
- CC_n = First day after chemical cleaning (d)
- CC_{n+1} = Last day before following chemical cleaning (d)

2.6 Operating parameters and membrane fouling rate

Operating parameters were obtained from the WWTP daily monitoring. Hence, daily inlet flow, permeate flow and sludge extraction flow were used to calculate the sampling days Organic Load (OL), Nitrogen Load (NL), Organic Loading Rate (OLR), Hydraulic Retention Time (HRT) and Sludge Retention Time (SRT). The membrane permeability assessment time step was set to 10min. Membrane permeability values were consequently used to calculate membrane resistance using the Darcy law (Eq. V.11).

$$J(20^{\circ}C) = \frac{\Delta P}{\mu(20^{\circ}C) \times R_m} \quad (V.11)$$

Avec :

$J(20^{\circ}C)$ = Membrane flux ($m^3/m^2/s$)

ΔP = Transmembrane pression (Pa)

$\mu(20^{\circ}C)$ = Water viscosity at 20 °C (Pa.s)

R_m = Membrane resistance (1/m)

2.7 Statistical analysis using Principal Component Analysis (PCA)

To study the impact of environmental parameters on active biomass communities, Principal Component Analysis (PCA) was performed using the FactoMineR package from RStudio ®software. The PCA is a statistical method allowing the representation the studied variables as an arrow in a 2D space calculated from all variables. PCA representativeness is estimated by calculating the total variance, represented by the two generated axes (principal components). Small angle between the arrows of variables indicates strong correlation between the variables represented by these arrows [108], [213].

3 Results and discussion

3.1 Membrane bioreactor operating conditions

Figure V.2a shows LS, HS and TR periods and their corresponding reactor volume, highlighting the second line start-up or closure. Interestingly, temperature variations followed the reactors volume trend, with minimum temperatures in winter (14°C) when the population was sparse, and temperature rises in summer (31°C), corresponding to the peak of

tourist season.

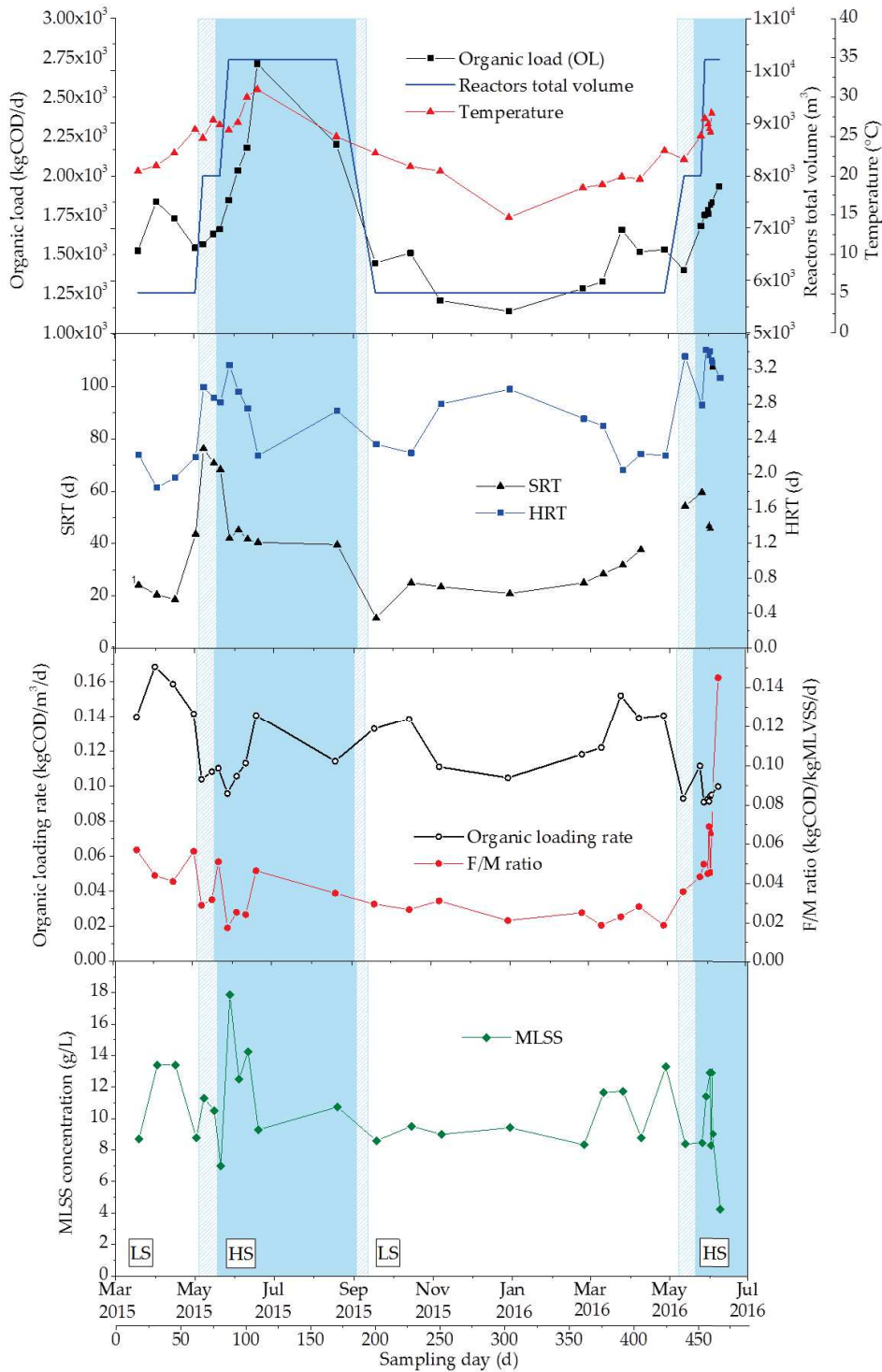


Figure V.2 – (a) Organic load (OL) (black circles), reactors total volume (blue line) and reactor temperature (red triangles) evolution with time, (b) SRT (black triangles) and HRT (blue squares), (c) Volumic loading rate (empty black circles) and massic loading rate (red circles) and (d) MLSS concentration (green diamonds) evolution with time where white areas correspond to low season (LS), blue areas correspond to high season (HS) and hatched blue areas correspond to transitional phases

Population increase was measured through OL variations (Figure V.2a). This parameter

was multiplied by 1.7 (1,500 to 2,700kgCOD/d) between April and July (2015/2016), justifying the second line start-up. This starting phase permitted better management of the influent flow, since a relatively constant HRT and OLR could be maintained throughout the all year (Figure V.2b and Figure V.2c). Before second line start-up, operators stopped sludge removal to promote an MLSS concentration increase in anticipation of MLSS dilution due to second biological tank filling. Moreover, through the MLSS increase, F/M ratio could be maintained (Figure V.2a and Figure V.2c). However, a sharp MLSS decline still occurred temporarily during the transitory periods (TR) before HS. Hence, the different periods, especially TR and HS periods, were characterized by unsteady conditions. Indeed, due to the specific location of the WWTP, the operating parameters were constantly adjusted to the influent flow (i.e population variations). Parameters, such as temperature, were identified as responsible for microbial community structure and metabolism modification [165]. This is of major interest since changes in SMP concentrations and composition can impact membrane fouling [81], [114]. From these statements, the active biomass variations were studied over time and compared with operating parameter changes with times.

3.2 Active biomass evolution

The respirometric measurements were used to further characterize MLVSS composition. Thus, active biomass concentrations were calculated according to their specificity : heterotrophic bacteria (X_H), ammonium oxidizing bacteria (X_{AOB}) and nitrite oxidizing bacteria (X_{NOB}).

Figure V.3 shows the active biomass variations over time and Table V.5 gives the mean values according to the season.

Table V.5 – Mean values and standard deviation X_H , X_{AOB} and X_{NOB} parameters in the different periods (LS : low season, HS : high season and TR : transitory period)

Period	LS	HS	TR
X_H (g/L)	0.61 ± 0.27	1.28 ± 0.67	0.92 ± 0.53
X_{AOB} (g/L)	0.23 ± 0.17	1.30 ± 0.35	0.35 ± 0.22
X_{NOB} (g/L)	0.18 ± 0.22	0.52 ± 0.37	0.32 ± 0.25

The MLVSS fraction represented $74 \pm 5\%$, in average, of the total particulate organic fraction present in the suspension (MLSS), which is one characteristic of activated sludge with low F/M ratio (inert accumulation). Within the particulate organic matter, the active biomass was measured at relatively low concentrations, especially during LS period. Indeed,

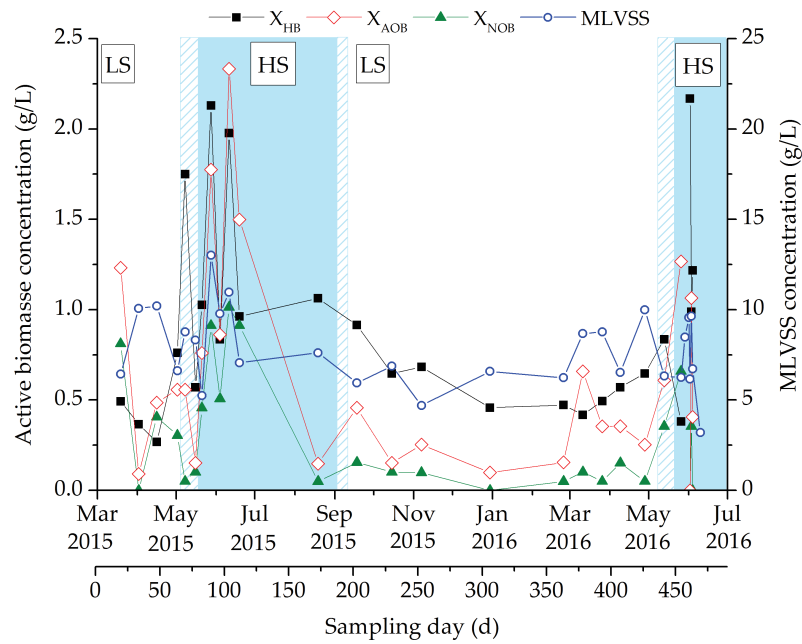


Figure V.3 – Heterotrophic (X_H) (black squares) and autotrophic (X_{AOB} et X_{NOB}) (empty red diamonds and green triangles) active biomass concentrations and MLVSS concentration (empty blue circles) evolution with time. LS and HS correspond to low season and high season respectively

the total active biomass represented $13 \pm 7\%$ of the particulate organic fraction during LS, compared to $27 \pm 9\%$ in HS. MLVSS is therefore not an appropriate parameter to directly quantify active biomass [224]. Heterotrophic bacteria were predominant as expected and represent around $8 \pm 4\%$ and $17 \pm 8\%$ of the particulate organic fraction during LS and HS, respectively. These values were in adequation with OL increase (Figure V.2a) reported in section 3.1.

On the contrary, autotrophic populations were in minority, in comparison with heterotrophic populations, but AOB population was generally measured at higher concentration than NOB population ($60 \pm 20\%$ and $41 \pm 23\%$ of the total autotrophic biomass, respectively). Due to their slow growing rate (μ_{max} from 0.83 to 0.99 1/d) [32], autotrophic bacteria concentrations, especially NOB, increased significantly at the beginning of a HS. This could be explained by the SRT increase (up to 110 d) or by temperature increase stimulating the growth of bacteria and boosting their activity (Figure V.2b and Figure V.3). Important active biomass concentrations variations were therefore observed between the different periods (LS, HS and TR), supporting the hypothesis that seasonal operating parameters change impact active biomass population increase and reductions.

In order to find the parameters with the greatest impact on these variations, a PCA in-

cluding active biomass concentrations and the operating parameters values was performed (Figure V.4).

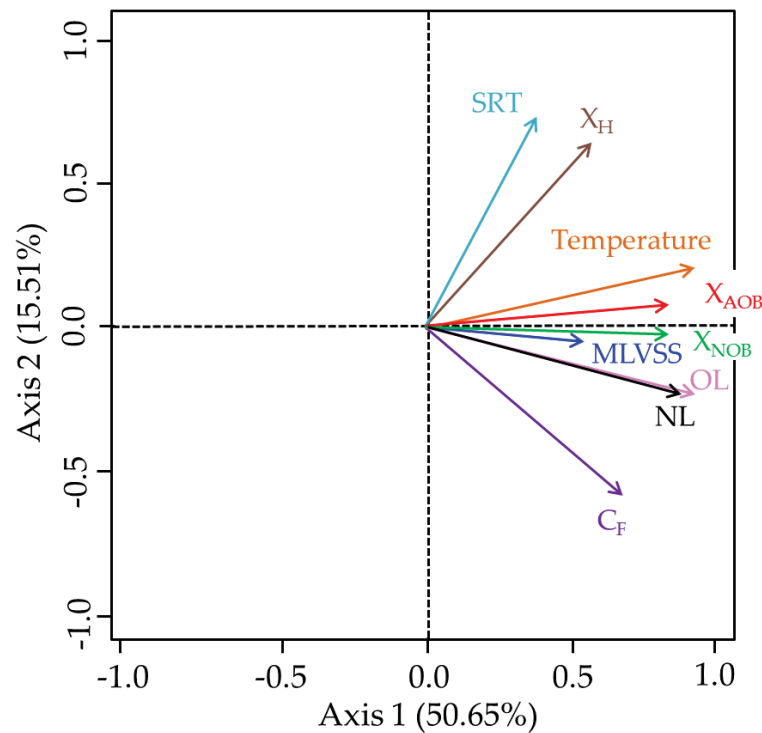


Figure V.4 – Principal Components Analysis (PCA) for operating parameters (SRT, Temperature, HRT, C_F , MLVSS, NL and OL) and active biomass population concentrations (X_{AOB} , X_{NOB} , X_H) corresponding to the sampling campaigns (April 2015 to June 2016 n=24)

The PCA (total variance represented = 66.16 %), shows that operating parameters didn't have the same impact on active biomass populations (Figure V.4). The small angle observed between X_{AOB} , X_{NOB} and temperature variables, confirms that higher temperature induced a higher autotrophic growth rate. NL also influenced autotrophic biomass, since more nitrogen is required for the autotroph metabolism. Surprisingly, the OL variable was not correlated with the X_H variable. On the contrary, heterotrophic biomass was influenced by a higher SRT, which is consistent with results in Figure V.3, where higher X_H concentrations were observed during the transitory period or beginning of the HS period. The MLVSS variable was badly represented in the PCA (short arrow), despite the small angles with autotrophic biomass variables. Moreover, it was not correlated with X_H , confirming that MLVSS was not appropriate to quantify active biomass. Finally, the C_F (SRT/HRT) variable, corresponding to a concentration factor of inert compounds in the MBR [231], did not directly influence heterotrophic nor autotrophic biomass concentration. Thus, from PCA results, SRT and temperature were the parameters of greatest influence on global active biomass populations, while NL mostly impacted autotrophic biomass.

3.3 DOM characterization, fate and fouling propensities

3.3.1 DOM fate in bulk supernatant

To detect the active biomass impact on DOM, Proteins from Biopolymers and HS+BB concentrations in BS_{MBR} , used as DOM indicators, were normalized by dividing them by the total active biomass concentration (X_{tot}).

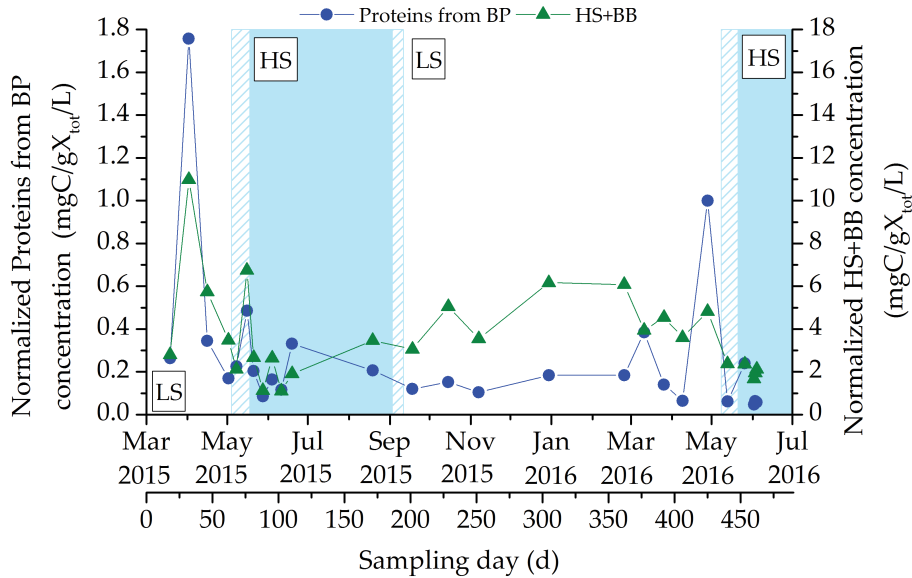


Figure V.5 – Evolution with time of the proteins from biopolymers (BP) concentration (blue circles), humic substances concentration (green triangles) normalized by the total active biomass concentration (X_{tot})

As already observed by Sun *et al.* (2014) [81], humic substances were the main DOM constituents in the MBR bulk supernatant (Figure V.5). Indeed, Proteins from BP were around ten times less concentrated than HS+BB (humic substances). High HS+BB concentration is typical to MBR possessing abundant microorganisms growing at endogenous stage (low F/M), that produce BAP containing a large proportion of humic substances [79]. This is confirmed by the relatively stable ratio between DOM and X_{tot} concentrations during the whole sampling period, despite the use of two different analytical methods (3DEEM and respirometric assays). Consequently, most of the DOM compounds were secreted by microorganisms and belong to the SMP group, which is consistent with the study of Kunaheva *et al.* (2017) [29]. Thus, humic-like substances detected by 3DEEM did not originate from Natural Organic Matter (NOM), but were of microbial origin also referred to as microbial humic-like substances [96]. Between April and May 2015 and 2016, despite a stable total active biomass concentration (Figure V.3), important DOM peaks (for both Proteins from

BP and HS+BB) were visible. However, no active biomass death or growth was involved in these excessive DOM productions. They must be explained by F/M ratio drops observed despite, the OL shocks before HS beginning (Figure V.2a and Figure V.2c). In this specific case, active biomass was under starvation, probably leading to SMP secretion that could be explained by more cell lysis and more intracellular compound consumption under high endogenous respiration [114].

Except for these peaks, DOM concentration variations were due to active biomass activity changes. Thus, these variations were probably dependent on SRT and temperature, which were identified as the parameters impacting most the microbial communities (section 3.2). Besides DOM concentrations, it was reported that microbial community structure and metabolism modifications also lead to fluctuations in DOM fouling characteristics [114]. For example, Sun *et al.* (2014) observed that severe fouling occurred at lower temperatures [81].

3.3.2 DOM fouling propensities

To estimate DOM fouling propensities R_{MBR} spectrum was calculated, following the procedure in section 2.3, and the HCl solution collected after a cleaning procedure (day 256) was analyzed using 3DEEM (CCS_{MBR}) (Figure V.6).

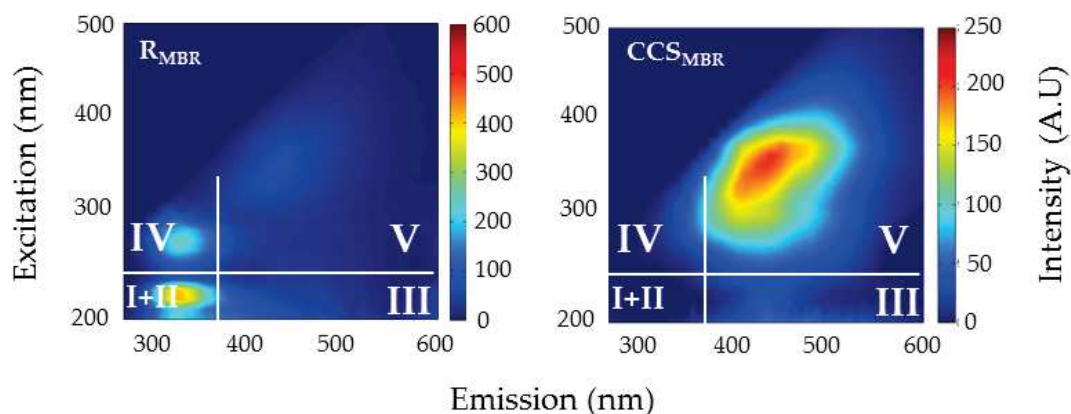


Figure V.6 – 3DEEM fluorescence spectra of the DOM retained by the membrane at day 458 ($R_{\text{MBR}} = \text{BS}_{\text{MBR}} - \text{P}_{\text{MBR}}$) and the DOM present in the HCl chemical cleaning solution taken day 256 (CCS_{MBR})

The R_{MBR} spectrum ($\text{BS}_{\text{MBR}} - \text{P}_{\text{MBR}}$) was characterized, as expected, by DOM fluorescing in Region IV, corresponding to SMP-like fluorophores used to quantify Proteins from BP (Figure V.6). Due to their size (> 20kDa) Proteins from BP were in fact reported to be retained by the membrane at around 77% in a previous study [6]. DOM fluorescing in Region I+II, corresponding to Prot1+2-like fluorophores, was also retained by the membrane. Hence,

among DOM molecules, the one containing fluorophores in Regions IV and I+II could be interesting indicators to study external fouling [40].

CCS_{MBR} spectrum (Figure V.6) corresponds to the HCl cleaning solution used to remove membrane irreversible fouling. In this case, only one fluorescence peak was observed in Region V, corresponding to compounds having HA-like fluorophores. HS+BB compounds, fluorescing in Region III and Region V, therefore had a significant contribution to the long term fouling. This is consistent with literature results, since humic substances tend to adsorb onto membrane surface due to their hydrophobicity [132], [92].

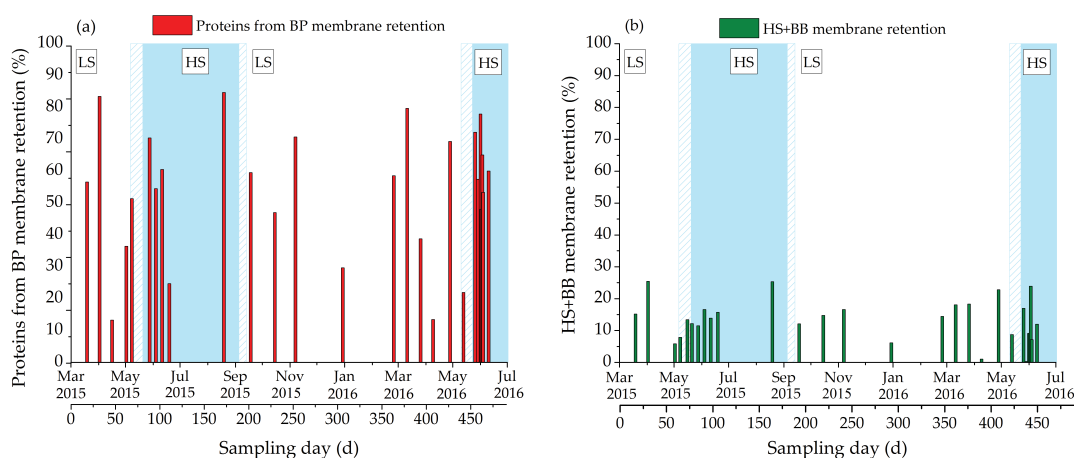


Figure V.7 – Evolution with time of (a) Proteins from Biopolymers membrane retention (red bars) and (b) HS+BB membrane retention (green bars)

Membrane retentions of the two DOM molecule classes were represented Figure V.7. Interestingly, no significant differences were observed between the LS and HS (Figure V.7a and Figure V.7b). Thus, membrane retention is not sufficient to highlight DOM fouling propensity fluctuations over time as a function of operating parameters or seasonal variations. Higher Proteins from BP membrane retention was visible (average value 54%) in comparison with HS+BB (average value 13%). Despite higher concentrations, HS+BB membrane retention was lower (between 0 and 25%), implying a different DOM biological production rate. Thus, using Eq. V.9, it was possible to estimate the production rate of HS+BB in comparison with Proteins from BP [231].

The calculated production rate ratio ranged from 1 to 24 (Eq. V.9), with an average value of 8. HS+BB production rate was therefore 8 times higher than the Proteins from BP production rate. This observation corroborates with the aforementioned hypothesis and strongly emphasizes the impact of HS+BB on fouling mechanisms. With an average membrane re-

tention of 13% and a mean concentration of 5.0mgC/L, around 0.65mgC of HS+BB per liter, in proportion to the permeate flux, will accumulate onto and into the membrane. This result confirms the impact of HS+BB compounds in the long term fouling, despite their low membrane rejection. On the contrary, Proteins from BP production rate is lower as well as their concentration. This is probably due to the low F/M, leading to protein consumption [114]. However, these compounds are more rejected by the membrane and can consequently have an important impact on membrane fouling due to their size [53]. To further understand the effect of DOM on MBR fouling, these results were compared with membrane resistance trends over time.

3.4 Membrane fouling and DOM accumulation

Membrane fouling dynamics can be observed through the evolution with time of the mean daily membrane hydraulic resistance (1/m), as shown in Figure V.7. The membrane hydraulic resistance varied from 4.6×10^{11} to 4.6×10^{12} 1/m and was controlled by the continuous supply of air membrane process and chemical cleaning (CC).

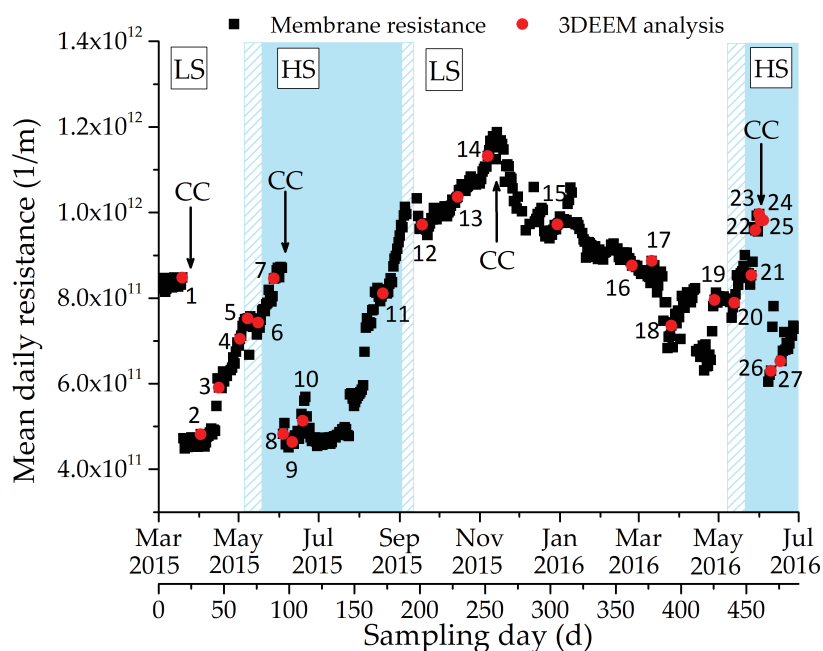


Figure V.8 – Mean daily resistance evolution with time (black squares) and sampling day (red circles). Numbers correspond to the sampling days. Chemical cleaning (CC) with HCl and bleach are reported with black arrows

During the sampling period, four chemical cleaning operations were performed (CC1, CC2, CC3 and CC4). From CC1 to CC3, membrane resistance increased with time between two cleanings. These filtration periods were qualified as Phase 1 (CC1-CC2) and Phase 2

(CC2-CC3). Surprisingly, between CC3 and CC4, membrane resistance decreased with time. This trend is abnormal in comparison to classical membrane resistance evolution [2]. Thus, only Phase 1 and Phase 2 were studied in the subsequent steps of the study.

To understand membrane fouling dynamics as a function of DOM compounds and operating parameters during Phase 1 and Phase 2, different indicators were investigated as already done in other studies [170], [171], [227], [172], [228], [192]. Consequently, Proteins from BP and HS+BB concentrations were plotted against the fouling rate. However, no correlations were highlighted (Figure D.1 in supplementary data). The same procedure was followed with their respective membrane retention since, hypothetically, only the retained fraction will impact membrane filtration. In this case, no direct link was highlighted either and as no direct link was observed with membrane resistance. These observations emphasize the complexity of membrane fouling mechanisms, which cannot be directly linked to a concentration. From this statement, PCA investigations were performed, including parameters such as SRT, temperature, membrane fouling rate and DOM concentrations (Figure D.2 in supplementary data). But, once again no clear correlations were identified between membrane fouling and DOM compound variables. Consequently, due to their dissolved nature (uniform concentration in the total bulk supernatant) and according to their membrane retention, HS+BB and Proteins from BP accumulation onto the membrane were calculated over time using Eq. V.10. This equation hypothesizes that each liter of bulk supernatant filtered by the membrane will bring a DOM mass equal to its concentration onto membrane surface. However, only the rejected fraction could be accumulated on the membrane surface.

DOM accumulations were therefore represented as a function of membrane retention in Figure V.9. Interestingly, about 5g/m² and 7 to 26g/m² of Proteins from BP and HS+BB, respectively, were calculated. Consequently, internal fouling due to HS+BB cannot be neglected in membrane fouling studies and for control optimization, due to high HS+BB concentrations and production rates (section 3.3.2). Despite a lower accumulated amount of Proteins from BP (around 5g/m²), the trend between both filtration phases is identical. This could mean that membrane resistance was mostly dependent on Proteins from BP deposition. For both phases, accumulation sharply increased with no effect on membrane resistance, but after an accumulation of 4g/m², membrane resistance drastically increased. This phenomenon was also visible in Figure V.8, corresponding to the classical TMP jump observed in

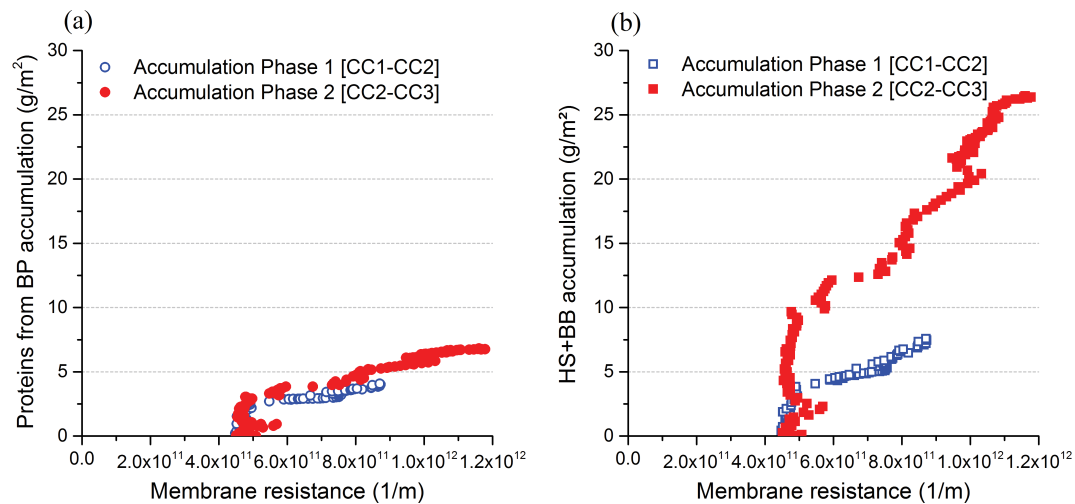


Figure V.9 – (a) Proteins from BP and (b) HS+BB accumulation as a function of membrane resistance for the filtration phases between CC1 and CC2 in blue [CC1-CC2] and between CC2 and CC3 in red [CC2-CC3]

MBR studies. It can be explained by a two-step process, first a gradual deposition of dissolved foulants (SMP), followed by cake formation that could be due to SMP accumulation or to biofilm consolidation [232], [88].

No impact of seasonal variations was observed on Proteins from BP fouling propensities since the trends were similar for both phases. On the contrary, a greater accumulation of HS+BB was observed during Phase 2. It indicates that HS+BB fouling propensities could vary over time, but will not significantly impact membrane resistance. Thus HS+BB fouling cannot be monitored using only a membrane resistance indicator. This strongly suggests the interest of using 3DEEM for on-line monitoring to further understand membrane fouling.

4 Conclusions

- Low active biomass concentrations were measured even during the high season, confirming that MLVSS concentration was not a relevant indicator to estimate and follow active biomass concentration in an MBR plant.
- SRT and temperature were identified as the parameters most influencing the microbial ecology and its associated production of by-products (SMP).
- Using a pseudo-quantitative method to estimate Proteins from BP and HS+BB concentrations from 3DEEM spectra confirmed that most of the DOM was SMP secreted by microorganisms, even humic-like substances. Indeed, a constant ratio between DOM and

active biomass concentrations was observed. DOM secretion was therefore dependent on temperature and SRT since they were metabolism resulting products.

- Most of DOM was constituted by HS+BB that were secreted about 8 times faster than Proteins from BP. Despite low membrane retention, the accumulated mass of HS+BB per membrane unit was important, mostly corresponding to internal fouling, which was seasonal dependent. HS+BB fouling properties can therefore change with time. However, high HS+BB concentrations are classical in low F/M operated MBR. To limit long term fouling it could be of major interest to decrease MLVSS concentration (increase F/M ratio) since it was directly linked to active biomass concentration.
- Proteins from BP accumulation were linked to a membrane resistance increase despite low concentrations in the MBR tank. Interestingly, regardless of the filtration phase, an accumulated mass of 5g/m² corresponded to a drastic increase in membrane resistance drastic increase. Thus, no significant fouling propensity changes were observed for Proteins from BP. Their accumulation, corresponding to external fouling, is mostly due to their size and not fouling propensity modifications.

5 Implications et perspectives

Cette étude a montré l'intérêt du suivi de la DOM en utilisant les calibrations de la 3DEEM développées dans le Chapitre IV. En effet, en comparant les concentrations des Proteins from BP et des HS+BB, calculées directement à partir des données de fluorescence, aux concentrations en biomasse totale, il a été confirmé que la DOM du surnageant de ce BâM était majoritairement composée de sous-produits de l'activité bactérienne. Ces sous-produits étaient principalement composés de HS+BB du fait notamment du faible F/M appliqué pendant les 488 jours étudiés. En effet, le ratio de la production des HS+BB et de la production des Proteins from BP était environ égal à 8. Dans le système de LGM, les HS+BB étaient sécrétés très rapidement et en grande quantité, en comparaison avec les Proteins from BP. Pouvoir calculer des concentrations, des rétentions membranaires et des vitesses de production est particulièrement intéressant pour les calibrations des modèles du type ASM. En effet, le modèle ASM-SMP, pourrait être calibré avec des concentrations estimées avec la méthode pseudo-quantitative de 3DEEM, donnant une information rapide et simple d'exploitation sur différentes classes de DOM. Une fois calibrés, ces modèles permettent d'estimer des concentrations de SMP sécrétées dans un système boues activées [45]. Combiné avec des simulations dynamiques du procédé (GPS-X®, Aquasim, Sumo), il pourrait ainsi être possible de prédire l'impact de paramètres tels que le SRT, le HRT ou la charge appliquée, sur la DOM en utilisant la 3DEEM seulement. Cette utilisation de la 3DEEM est également prometteuse pour l'application en ligne, donnant des informations quantitatives et faciles à extraire.

L'utilisation de la 3DEEM a également permis de calculer l'accumulation des Proteins from BP et de la mettre en lien avec l'évolution de la résistance membranaire mesurée dans le réacteur membranaire R4 de La Grande-Motte. Ainsi, entre les deux périodes de filtration étudiées, l'accumulation des Proteins from BP en fonction de la résistance membranaire était identique, impliquant un effet de l'accumulation de cette fraction sur les performances de filtration. Ceci est en lien avec les résultats du Chapitre III et de la taille de ces composés (Chapitre IV). Concernant les HS+BB, une accumulation considérable a également été observée du fait de leur production rapide. Ceci implique que les substances humiques ont un impact considérable sur l'étape de filtration membranaire, malgré leur faible rétention, en changeant notamment les propriétés de surface de la membrane, confirmant également les

résultats du Chapitre III. Néanmoins, il est difficile de mettre en évidence au travers de cet indicateur l'influence de l'accumulation des HS+BB sur l'accumulation globale de DOM, car le Bàm est un système complexe et cet indicateur ne permet pas de prendre en compte de façon directe les interactions DOM/membrane (accès limité à la membrane).

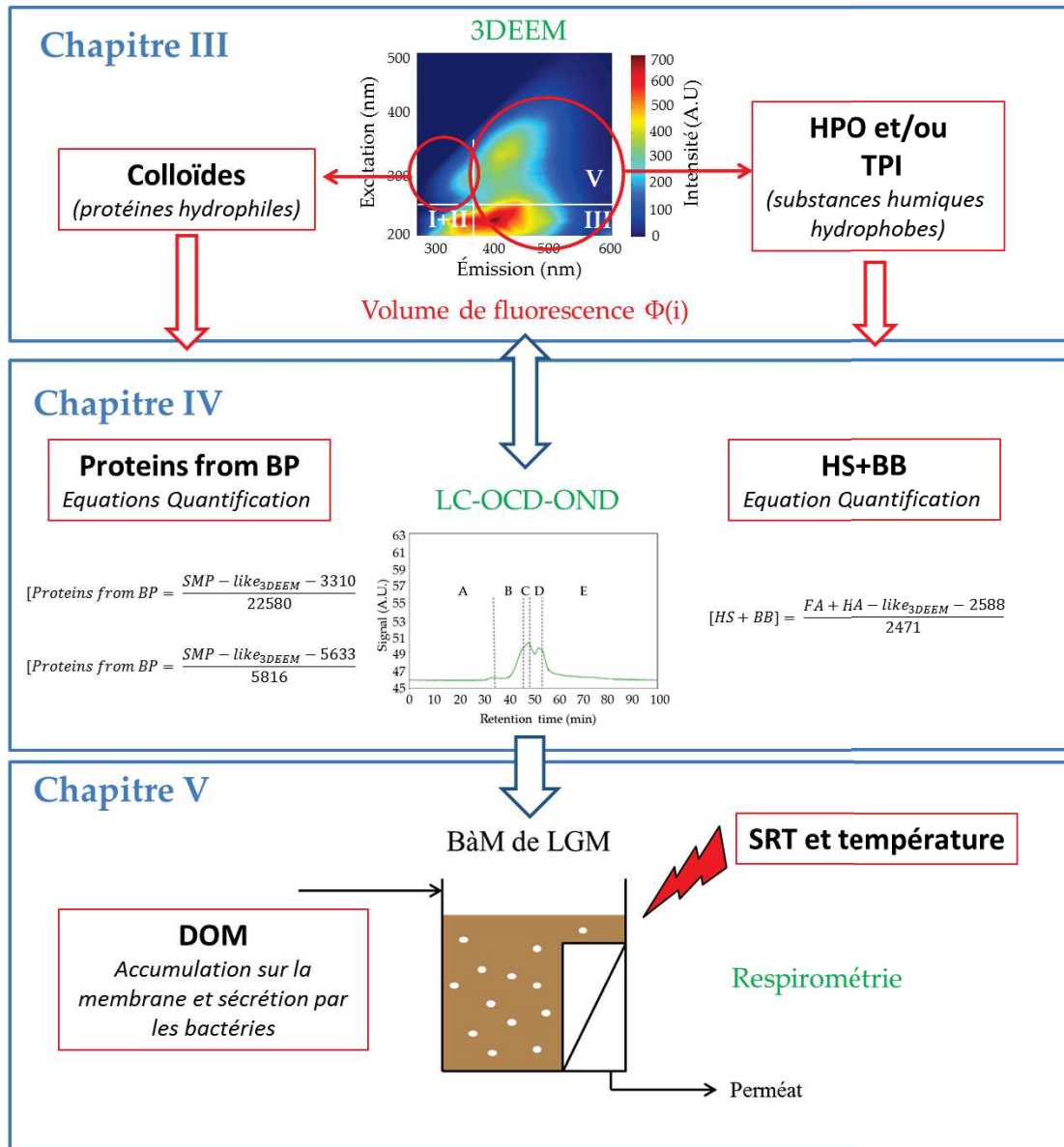


Figure V.10 – Utilisation de la méthode pseudo-quantitative de 3DEEM pour mettre en évidence le lien entre paramètres opératoires, biomasse active et DOM dans le Bàm de La Grande-Motte

Concernant les variations saisonnières, l'accumulation des Proteins from BP était identique pour les deux périodes de filtration étudiées, tandis que celle des HS+BB été sujette à de fortes variations. Ainsi, les fluctuations liées aux périodes touristiques et saisonnières, semblent influencer particulièrement la production et l'accumulation des HS+BB, comme

il l'a été mis en évidence par l'ACP (influence majeure de la température et du SRT sur la biomasse active). Il n'est cependant pas possible de conclure sur d'éventuels changements de propriétés colmatantes à cette échelle de travail.

Même si des conclusions intéressantes sur la DOM de la STEP de LGM ont pu être faites, le sujet d'étude de La Grande-Motte reste particulièrement complexe. Ceci est dû aux variations saisonnières importantes, entraînant des modifications de fonctionnement de la station. Il n'est donc pas possible d'expliquer tous les phénomènes liés à la DOM. Toutefois, cette étude a montré que le suivi quantitatif de la DOM par 3DEEM, combiné à d'autres indicateurs, pourrait être une nouvelle façon de suivre, voire de contrôler le colmatage.

Pour compléter l'étude de la DOM, il faudrait également estimer l'influence de l'effluent d'entrée sur la composition globale de la DOM. En effet, à La Grande-Motte le suivi simultané de la DOM et de la biomasse active a montré des variations similaires des deux variables, montrant qu'il existe effectivement un lien entre elles. Néanmoins, il n'a pas été possible de confirmer cela en analysant l'intrant de la station par 3DEEM (Figure D.3), du fait de la complexité de l'étude de la transformation de la DOM à une telle échelle. Pour mieux comprendre les mécanismes de transformation, il est nécessaire de maîtriser les paramètres opératoires appliqués au procédé, ainsi que l'acquisition des données sur la DOM entrante.

Chapitre VI

Source-separated urine nitrification using a MBR : performances, biomass acclimation and DOM transformation

Objectifs et approches du Chapitre VI

Pour mieux comprendre l'origine et le devenir de la DOM au sein d'un procédé de type BâM, c'est-à-dire sa modification par la biomasse active et son comportement vis-à-vis de la séparation membranaire, une étude à l'échelle laboratoire a été réalisée, dans le cadre du Projet FUI CARBIOSEP (BFG Environnement, Université de Strasbourg, SNCF). Ceci a permis de maîtriser l'ensemble des paramètres opératoires pour mieux estimer l'impact de l'intrant sur la composition et la concentration en DOM et le lien qui pourrait exister entre la DOM alloctone et la DOM autoctone.

Les études pilotes sont souvent controversées, notamment du fait de l'utilisation de solutions d'alimentation synthétiques [2]. Ainsi, la dernière partie de cette thèse a consisté à la mise en œuvre d'un BâM à l'échelle laboratoire traitant des urines réelles collectées quotidiennement. Le choix de cet effluent s'est justifié par le fait que c'est un effluent particulier en terme de salinité et de ratio C/N, pouvant modifier notamment l'équilibre microbien et les activités biologiques. Ainsi, acclimater une boue activée traitant des effluents domestiques avec un effluent composé d'urine diluée dans de l'eau du robinet (simulation chasse d'eau), pourrait se répercuter sur la composition et la concentration de la DOM du surnageant des boues activées de ce procédé.

Au-delà de la volonté de lever des verrous scientifiques sur l'origine et le devenir de la DOM dans un procédé type BâM, la mise en application de systèmes de traitement sur des effluents séparés à la source (urine seule) est une perspective en rupture avec les traitements traditionnels, mais qui est de plus en plus envisagée [233]. En effet, la séparation et la sélection des effluents permettent de concentrer certains composés spécifiques (nutriments (N, P, K), micropolluants) et d'orienter le traitement vers une valorisation des effluents traités ou de leurs co-produits (chaleur, biogaz, nutriments fertilisants) [234]. Ceci permettrait de rééquilibrer les flux de matières, ainsi que de limiter l'énergie dépensée pour le traitement, qui est souvent suivi d'un rejet systématique dans le milieu naturel. La conception des systèmes actuels de traitements, contribue au lessivage des sols en éliminant notamment l'azote et le phosphore qui seront des ressources limitées, ainsi que limitantes dans le futur pour le développement des populations. Au-delà de l'aspect valorisation, la séparation à la source permet de diminuer la taille des infrastructures, via la sélection de la pollution, et d'offrir

des perspectives de traitement délocalisées et plus adaptées au traitement de pollutions émergentes (micropolluants, métaux lourds) [235].

Ainsi, la mise en place d'un Bàm à l'échelle pilote pour le traitement des urines séparées à la source s'inscrit dans une thématique de valorisation des eaux usées (« waste is resource ») particulièrement intéressante.

**Source-separated urine nitrification using a Membrane
BioReactor : performances, biomass acclimation and Dissolved
Organic Matter (DOM) transformation**

*Céline Jacquin¹, Mathias Monnot¹, Razina Hamza¹, Yahaut Kouadio¹, François Zaviska¹, Tony
Merle², Geoffroy Lesage¹, Marc Héran¹*

¹IEM (Institut Européen des Membranes), UMR 5635 (CNRS-ENSCM-UM), Université de
Montpellier, Place E. Bataillon, F- 34095, Montpellier, France.

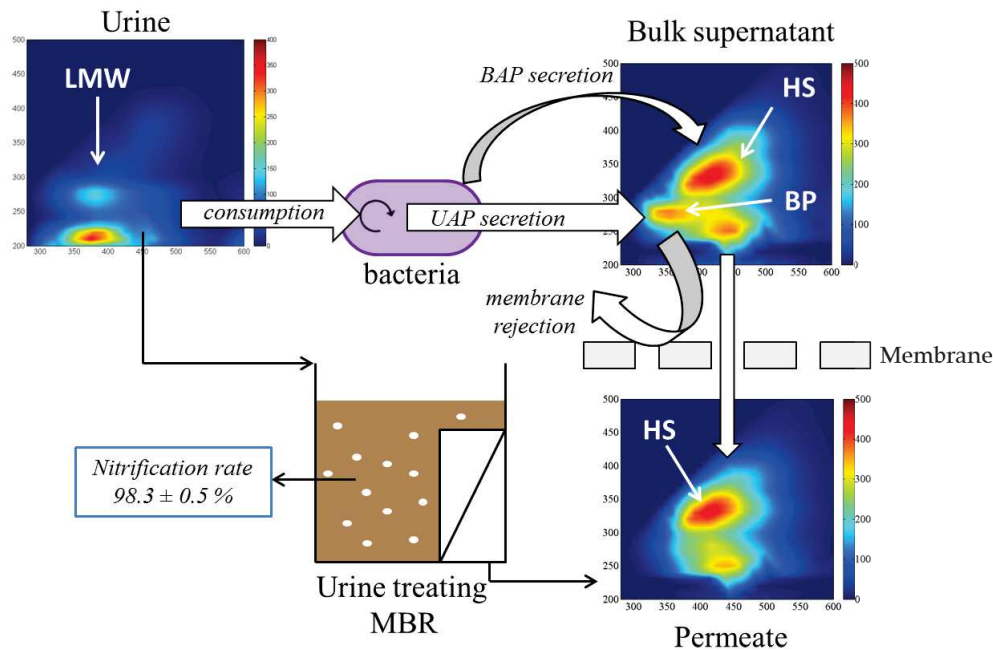
²Eawag, Swiss Federal Institute of Aquatic Science and Technology, P.O. Box 611, 8600
Dübendorf, Switzerland.

Abstract

In this study, a lab-scale MBR was fed with fresh urine collected from source-separated public toilets. Despite a very high total nitrogen concentration, and high salinity inherent to urine effluent, biomass acclimation was quickly achieved. After 80 days of acclimation, a nitrogen loading rate of $1.2 \pm 0.2 \text{ kgTN/m}^3/\text{d}$ was reached and maintained during more than 40 days, with an average nitrification rate of $98.3 \pm 0.5\%$. Process stability was ensured with a progressive nitrogen loading rate increase and pH control strategy to limit ammonia (NH_3), nitrite (NO_2^-) and nitrous acid (HNO_2) inhibition. In parallel, urine Dissolved Organic Matter (DOM) was characterized in urine, bulk supernatant and permeate, using three-dimensional excitation-emission fluorescence (3DEEM) and liquid chromatography coupled with organic carbon, nitrogen detectors and UV detector (LC-OCD-OND-UVD). By combining these two techniques, it was possible to investigate urine DOM transformation during biological reaction and membrane separation. Results show that urine is mainly composed of low molecular weight molecules ($< 1,000\text{Da}$) which were easily consumed by the active biomass. This consumption came with the production of utilization-associated products (UAP), identified as biopolymers (BP) containing SMP-like fluorophores. This production was linearly correlated to the NLR increase, while biomass decay was associated with humic-like compounds containing FA+HA-like fluorophores (BAP). Concerning membrane retention, BP were mainly retained by the membrane and tended to accumulate in the reactor. Humic-like compounds were mostly implied in irreversible fouling. This original approach, consisting in following DOM fate within an MBR treating source-separated

urine, allowed highlighting the quick active biomass acclimation and its important activity, through the use of the 3DEEM method.

Graphical abstract



1 Introduction

Urine source separation is of great interest because most of the nutrients in wastewater (87% of nitrogen, 50% of phosphorus and 54% of potassium) are contained in urine which accounts for less than 1% of the total volume of wastewater [236]. Nitrogen and phosphorous were identified as critical factors since they promote algal growth and eutrophication in aquatic ecosystems. Major efforts have been undertaken to decrease these anthropogenic nutrient emissions from wastewater treatment plants (WWTP) [237]. Separating urine from wastewater would offer various advantages : WWTP could be built on a smaller scale, consume less energy and produce better quality effluent [238]. Moreover, nutrients from urine could be recovered for agricultural uses [239], [240] and hazardous micropollutant treatment would be enhanced [241]. Urine source-separation could therefore increase the flexibility and efficiency of wastewater treatment (WWT).

In general, 60% of the total plant operating costs of a conventional wastewater treat-

ment plant (WWTP) based on an aerobic treatment step, i.e activated sludge, concern sludge conditioning and disposal [242], [243]. In addition, taking into account the legislative constraints on sludge disposal, the decrease of sludge production would be mandatory for the development of a more sustainable WWT in the future [244], [243]. One of the easiest ways to reduce the sludge production is based on the control of cell metabolism. This strategy consists of favouring the use of substrate consumption for the maintenance bacterial functions. Metabolism modification is therefore possible by controlling the food to micro-organisms F/M ratio. Low F/M ratio limits the quantity of substrate available for biomass unit. Maintenance functions are therefore the cell priority limiting biomass production [245], [230]. However, to ensure the capability of treating acceptable organic loading rates, high biomass concentration in the system is required. In this way, only fixed culture and membrane bioreactors (MBR) with high sludge retention time (SRT) can satisfy this condition.

Membrane bioreactors (MBR) have become state-of-the-art technology for wastewater treatment [21]. This involves a combination of the conventional biological sludge process with a micro or ultrafiltration membrane system. While the biological process can significantly reduce organic pollutants by biodegradation, the membrane module acts as a physical separation retaining particles and bacteria between the treated water and the mixed liquor. It is then possible to produce disinfected water suitable for reuse applications [34], [35]. MBR technologies offer the advantage of low footprint installation, better biomass acclimation, process intensification, better quality of the treated effluent and high operational flexibility (dissociation of the hydraulic retention time and the sludge retention time) [13].

Urine is highly concentrated in different salts (Total Dissolved Salts (TDS) above 10g/L) and usually presents a chemical oxygen demand to total nitrogen ratio (COD/TN) below 2 [246]. The specificity of having a low COD/TN ratio would be an obstacle for full denitrification [247], [230]. Indeed, the low organic carbon load is only favorable towards the nitrification step (as nitrification is carried out by autotrophic bacteria). Fresh urine contains urea that can be rapidly hydrolyzed into carbon dioxide and ammonia when it is stored (due to urease activity). Ammonia (NH_3) and ammonium (NH_4^+) are then in equilibrium depending on the pH ($\text{pK}_a = 9.25$). As a result, ammonium ions represent the major compounds of total nitrogen of this wastewater influent. An issue for full nitrification is that free NH_3 can inhibit ammonia oxidizing bacteria (AOB) activity and thus hinder the treatment of NH_4^+

increasing even more the concentration of NH_3 [176], [248]. High concentrations of NH_3 also cause the inhibition of nitrite-oxidizing bacteria (NOB) [177] and consequently lead to the accumulation of nitrites NO_2^- in equilibrium with nitrous acid (HNO_2) ($\text{pK}_a = 3.35$). High concentrations of HNO_2 highly inhibit the activity of both NOB and AOB and can even be toxic to bacteria [177]. Consequently, due to the potential presence of these inhibiting compounds, full nitrification of a concentrated nitrogen solution, such as fresh urine, in a MBR may be challenging and acclimation of the biomass may be crucial [249]. Indeed, the highest nitrogen loading rate (NLR) reached for the nitrification of urine was $0.27\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$ in a hybrid membrane aerated biofilm reactor at pH 7 [239]. Concerning the nitrification of municipal wastewater, the highest NLR reached with a nitrite shunt process in a sequential batch reactor was $1.2\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$ with stable ammonia removal efficiency of more than 98% thanks to a progressive increase of the NLR [250]. Khan *et al.* (2013) [251] studied the impact of NLR on the efficiency of municipal wastewater treatment in a MBR and found over 89% of nitrification efficiency at a NLR of 0.15 and $0.3\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$. However, in this study the highest NLR led to the formation of smaller microbial floc sizes, consequently releasing more soluble microbial products (SMP) into the mixed liquor, already identified as mainly responsible for membrane fouling. Concerning the impact of salinity on nitrification, high salt concentration ($> 10\text{g}/\text{L}$) can cause plasmolysis and the loss of microbial activity of cells when organisms are not adapted to the saline environment. However, Gonzalez-Silva *et al.* (2016) [252] showed that after acclimation, it was possible to nitrify $0.12\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$ by more than 95% in brackish water ($\text{TDS} = 20\text{g}/\text{L}$) and even in seawater ($\text{TDS} = 32\text{g}/\text{L}$). They also demonstrated that a huge decrease (97 %) of the nitrification efficiency was observed when the salinity increased (until $\text{TDS} = 32\text{g}/\text{L}$) for a non-acclimated biomass.

Moreover, influent composition leads to activated sludge microbial community selection, consequently modifying the production and occurrence of soluble microbial products (SMP) and Dissolved Organic Matter (DOM). Indeed, Shen *et al.* (2012) [113], identified different organic fluorescent footprints when comparing fluorescence spectra of two activated sludge supernatants originating from industrial and urban WWTP. These differences are mostly the result of active biomass activity since the bulk DOM is mainly constituted of microbial activity by-products of microbial activity also referred to as soluble microbial products (SMP), yet hardly biodegradable compounds from the influent represent which represented only 2% of the total DOM [154], [29]. SMP can be divided into two main families; the by-

products associated to influent compounds consumption or utilization associated-products (UAP), mostly produced in growth and stable phases, and the products secreted during endogenous respiration, biomass decay or as a response to specific environmental conditions such as a food scarcity, or stress due to toxic or saline shock (biomass associated-products, BAP) [80], [63]. DOM characterisation is therefore of major interest since chemical composition variations of the influent affect SMP production [221]. This can be the case of MBR treatment of urine from source-separated technologies where biomass could be subject to extreme conditions and important influent variations (salinity, high NLR, NH_3 or HNO_2 presence).

The objective of this study was to evaluate the operation efficiency of a submerged MBR for urine treatment stabilisation (nitrification). Hence, a lab-scale MBR was fed with real and fresh urine coming from source-separated toilets and operated during 120 days. The global MBR performances were monitored through COD removal rates and nitrification efficiencies. For a better understanding of the influent DOM effect on SMP secretion, DOM fate and retention were studied using advanced characterisation tools : excitation emission matrix fluorescence (3DEEM) and liquid chromatography with organic carbon and nitrogen detectors and a UV detector (LC-OCD-OND-UVD). This combination of analytical techniques helped following DOM in a MBR to further understand the physiological response to the influent. This suggests the strength of using 3DEEM as an on-line indicator for MBR process control.

2 Material and methods

2.1 Inoculum

The lab-scale MBR was inoculated with activated sludge sampled in the aerated tank of a full scale domestic WWTP (8.000 P.E) performing nitrification/denitrification treatment using a CAS process. The average WWTP influent nitrogen loading rate (NLR) and the organic loading rate (OLR) were $0.09\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$ and $0.45\text{kgCOD}/\text{m}^3/\text{d}$, respectively.

2.2 Urine collection and characteristics

Fresh urine was daily collected from male public toilets and stored at 4°C before utilization. Collecting urine from source-separated toilets results in a high variability in terms

of COD and TN concentrations. A complete characterization of urine used to feed the MBR was then performed 4 to 5 times a week (Table VI.1 and Table E.1 and E.2 in supplementary data), in order to adjust the pilot working condition to the nitrogen load target value.

Table VI.1 – Urine main characteristics (mean values and relative standard deviations, n=74)

pH	conductivity (mS/cm)	COD (mgO ₂ /L)	TN (mgN/L)	COD/TN ratio
7.9 ± 0.6	17.4 ± 5.0	7003 ± 2062	6682 ± 1488	1.0 ± 0.3

Due to high salinity content, urine conductivity is relatively high compared to ordinary municipal wastewater. Concerning pH and COD/TN ratio, their values were stable despite urine variability with average values equal to 7.9 ± 0.6 and 1.0 ± 0.3, respectively (Table VI.1).

2.3 Lab-scale MBR set-up

A four liter submerged MBR, equipped with a flat-sheet microfiltration (MF) membrane module made of PVDF (A3 Company, USA), was fed with fresh urine for a period of 120 days. An illustration of the MBR set-up is shown in Figure VI.1 and its characteristics are referenced in Table VI.2.

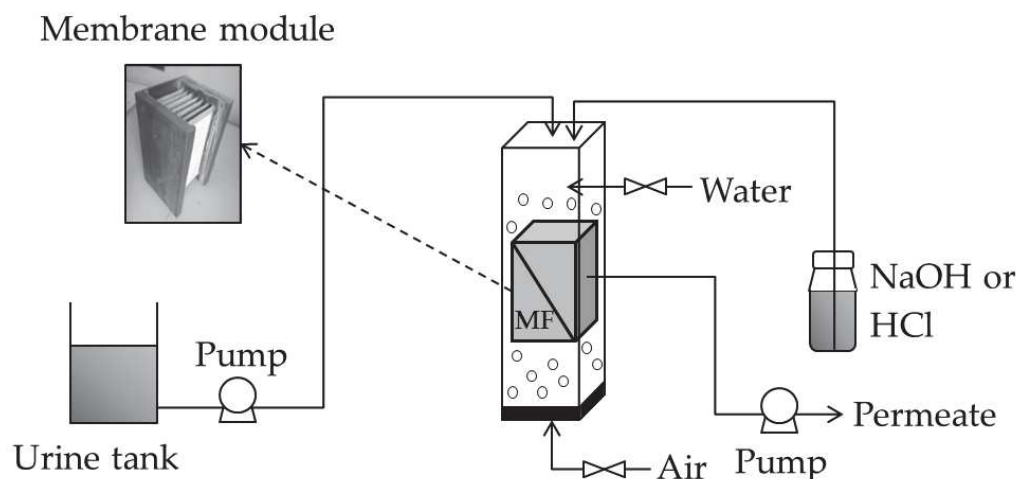


Figure VI.1 – Lab-scale MBR set-up scheme

Aeration was provided at the bottom of the reactor and dissolved O₂ was consistently 6mg/L in the bulk phase. It was therefore not a limiting factor for biomass respiration and

Table VI.2 – Lab-scale MBR set-up main characteristics.

Lab-scale set up	Volume (L)	HRT (h)	Membrane surface (m ²)	Membrane pore cut-off (µm)	Permeate production (L/d)
MBR	4	39.09	0.258	0.14	2.46

growth. Udert and Wächter, (2012) [239] showed that the optimal pH for the highest nitrification rate was 7.0. Therefore, for optimal treatment efficiency, the pH was controlled of an 7.0 ± 0.3 by the addition, at the beginning, of an acid solution (HCl, 1mol/L) and, when efficient nitrification occurred, a base solution (NaOH, 1mol/L). Concerning temperature, only small variations were observed ($19.9 \pm 1.2^\circ\text{C}$). The lab-scale MBR acclimation phase was performed by gradually increasing the NLR, starting from an initial NLR equal to the NLR measured in the CAS WWTP described in section 2.1. Thereafter, the MBR was fed with fresh urine at different dilution rates (from 16.4 to 3) using an automatic tap water flushing system to reach a final dilution rate of around 3, corresponding to a low-flush water dilution. The acclimation phase therefore consisted of a progressive increase of the urine load until reaching a final NLR of about $1.2\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$, in order to demonstrate nitrifying biomass adaptation to such unusual conditions for wastewater treatment. Indeed, the low COD/TN ratio, the high nitrogen load and the high salinity, are stress conditions for biomass stability. However, such conditions are unavoidable in source-separated wastewater treatment. No sludge was extracted during the experimental period, to fit to specific conditions of a source separated urine treatment in confined or embarked conditions with low maintenance capacity (trains, boats, buildings).

2.4 Analytical methods

Duplicate samples of activated sludge mixed liquor suspended solids (MLSS) and mixed liquor volatile suspended solids (MLVSS) concentrations were measured weekly, using standard methods (APHA, 2005).

COD values were measured using Hach kits LCI 400 (0-1000 mgO_2/L) for urine samples and LCI 500 (0-150 mgO_2/L) for permeate samples at the appropriate dilution.

Concentrations of anions (i.e. NO_2^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , Cl^- , SO_4^{2-}) and cations (i.e. NH_4^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , K^+ , Na^+) concentrations in urine and permeate were measured using an ion chromatograph ICS-1000 (Dionex) equipped with an IonPac AS19 column for anions and an ICS-900 (Dionex) equipped with an IonPac CS12A column (Dionex) for cations. Total Nitrogen (TN) amount was measured in duplicate using Hach kits (TN LCK 338, 20 – 100 mg/L TN). These measurements were essential because fresh urine contains nitrogen in urea form (organic nitrogen), which cannot be detected by ionic chromatography analysis. TOC analysis was

performed in duplicate using a TOC-VCSN Shimadzu analyzer (Shimadzu, Japan).

For DOM analysis, activated sludge samples were centrifuged (10min, 4000g) and filtered through 1.2 μ m glass microfiber filters (Whatman GF/C) to collect the bulk supernatant containing colloidal and soluble DOM forms before LC-OCD-OND-UVD and 3DEEM measurements.

2.5 LC-OCD-OND-UVD measurements

Seven samples were collected during the lab-scale MBR operation and analyzed using LC-OCD-OND-UVD. The sampling days were chosen depending on the global MBR state in order to identify operating conditions effect on the DOM characteristics. Specific conditions corresponding to those samples are referred to in Table VI.3 and Table E.2 in supplementary data.

Table VI.3 – NLR, OLR, COD/N ratio, conductivity and feed dilution measured at the sampling days for LC-OCD-OND-UVD analysis.

Day	NLR (kgTN/m ³ /d)	OLR (kgCOD/m ³ /d)	COD/N ratio	Feed dilution rate
6	0.53	-	-	16.3
13	0.44	0.41	1.1	12.3
20	0.81	0.69	1.2	7.2
27	0.75	0.80	0.9	6.0
40	0.33	0.30	1.1	5.1
66	0.74	0.57	1.3	5.2
81	1.07	1.43	0.7	3.3

LC-OCD-OND-UVD was therefore used to separate and quantify, in terms of dissolved organic carbon and dissolved organic nitrogen (DOC and DON, respectively), fractions of organic matter contained in urine, bulk supernatant and permeate as a function of molecular weight. Analysis were performed according to Huber *et al.* (2011) [5], [6]. From the chromatograms, four fractions were identified and quantified depending on their elution time. The biopolymers (BP_{OCD}) are the largest organic molecules (i.e. < 20,000Da) composed of proteins and polysaccharides. The second fraction corresponds to the humic substances and their degradation products called building blocks (HS+BB_{OCD}), having a molecular weight between 1000 and 300Da. Low molecular weight molecules (i.e. < 350Da) are then detected, with first the low molecular weight acids (LMW-A_{OCD}), released by bacteria or corresponding to final degradation products of organics, and then low molecular weight neutrals

(LMW- N_{OCD}), mostly composed of alcohols, aldehydes, ketones, sugar and amino-acids.

2.6 3DEEM measurements

Urine, bulk supernatant and membrane permeate samples were analyzed using a Perkin-Elmer LS-55 spectrometer (USA). Samples preparation and data extraction using volume of fluorescence ($\Phi(i)$) were described in a previous study [6]. Spectra are usually divided into different regions defined by Chen *et al.* (2003) [3] and described in Table VI.4.

Table VI.4 – 3DEEM fractions description [3].

Region	I+II	III	IV	V
Abbreviation	Prot1+2-like	FA-like	SMP-like	HA-like
Volume of fluorescence nomenclature	Prot1+2-like _{3DEEM}	FA-like _{3DEEM}	SMP-like _{3DEEM}	HA-like _{3DEEM}
Excitation/Emission wavelength	Ex=200-250nm Em=280-380nm	Ex=200-250nm Em=380-600nm	Ex=250-350nm Em=280-380nm	Ex= 250-500nm Em=380-500nm
Characteristics	Fluorophores associated with aromatic proteins (Tyrosine)	Fluorophores associated with fulvic acid-like molecules	Fluorophores associated with proteins mainly derivated from SMP (Tryptophane)	Fluorophores associated with humic acid-like molecules and their hydrolyzates

3 Results and discussion

3.1 Biomass acclimation

Figure VI.2a displays the NLR variations over time during the 120 day operation. From NLR evolution in the MBR, three phases were distinguished.

The first phase (phase 1), from day 1 to day 40, corresponded to a regular increase of the NLR from about 0.3kgTN/m³/d to around 0.8kgTN/m³/d at day 22, followed by a stand-still until day 40. At day 40, the NLR was reduced. This was the consequence of an increase of NO_2^- concentration in the reactor (up to 135mgN- NO_2^- /L, Table E.2 in supplementary data), which is an inhibitor or even toxic for biomass [177]. The NLR increase rate was in fact, too abrupt for micro-organisms (0.04kgTN/m³/d/d), leading to nitrite and ammonia accumulation. This is a recurrent problem in nitrification processes, since NOB (NO_2^- to NO_3^-) have lower growth rates and are more sensitive to inhibition than AOB bacteria. NOB therefore need a longer time to establish a sufficient population to cope with the increased NLR [252]. The NLR decrease at day 40, initiated a second phase (phase 2) from NLR of about 0.3kgTN/m³/d until day 81. Thereafter, the NLR was continuously increased until an

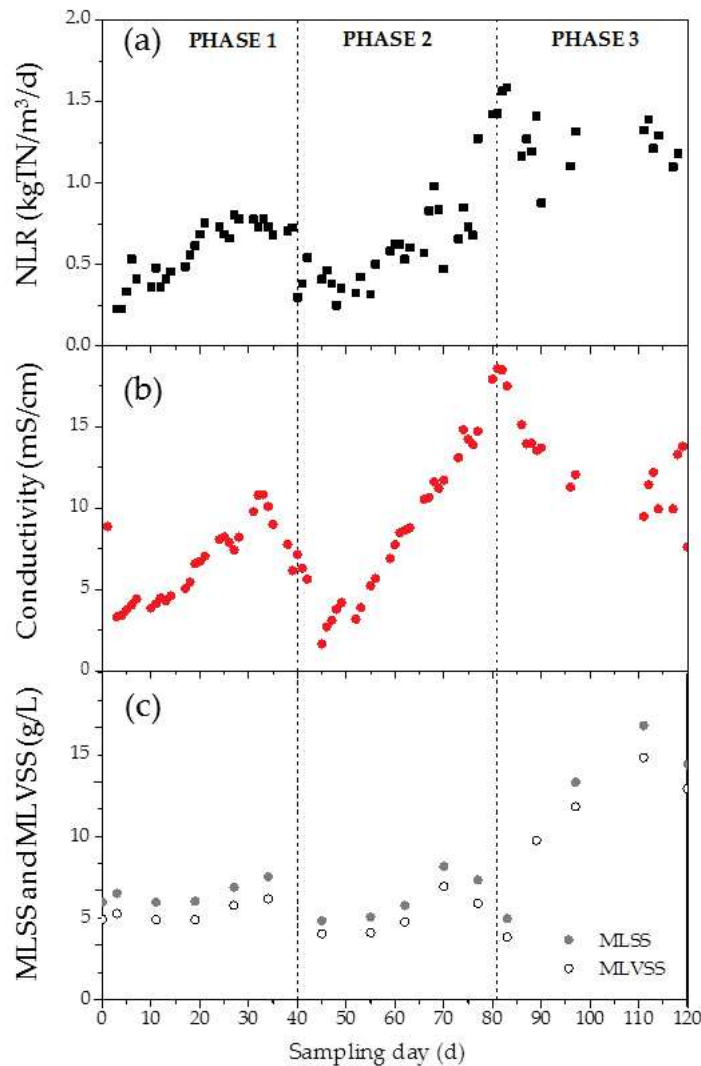


Figure VI.2 – (a) NLR, (b) conductivity and (c) MLSS and MLVSS concentrations in the lab-scale MBR over time

average value of $1.6 \text{ kgTN/m}^3/\text{d}$ at an increase rate of $0.03 \text{ kgTN/m}^3/\text{d/d}$. The last phase (phase 3) was considered as the stabilized phase with an almost constant NLR value around $1.2 \text{ kgTN/m}^3/\text{d}$. This NLR corresponds to one of the highest NLR reached in the literature for urine nitrification and municipal wastewater treatment [239], [251], [250].

Concerning MLSS and MLVSS concentrations presented in Figure VI.2c, it can be stated that the ratio between MLVSS and MLSS was rather constant over time. Indeed, 83% of the MLSS was made of MLVSS on average, implying that inert accumulation was limited, since an MLSS increase was dependent on NLR (exogenous respiration). Thus, the more substrate was provided, the more bacteria were present in the MBR. Two exceptions were observed at days 40 and 81 corresponding to the decrease of the substrate flow. As mentioned above,

NLR was reduced after day 40, which was followed by MLSS diminution (Figure VI.2a and VI.2c). At day 81, the NLR was also reduced from 1.6 to 1.2kgTN/m³/d. Moreover, this trend was amplified by the decrease of the COD/TN urine ratio, possibly inducing heterotrophic bacteria decay [248]. Figure VI.2b shows the conductivity values recorded in the MBR. It increased gradually over the first two phases from 3 to 11mS/cm during phase 1, and from 2 to 19mS/cm during phase 2, before stabilizing around 1mS/cm during phase 3. The variations in conductivity were directly linked to the NLR and a maximum value of 19mS/cm was reached at day 81 without impacting treatment efficiency.

3.1.1 Nitrogen and carbon treatment efficiency

Figure VI.3a shows both TOC and COD removal rates in the MBR. After 5 days of acclimation, and despite the conductivity increase, COD and TOC removal rates were over 85% and 95% respectively, indicating a high heterotrophic biomass activity. The heterotrophic bacteria therefore quickly adapted to this specific substrate. Moreover, the progressive increase of the NLR did not affect the COD removal efficiency as also observed by Khan *et al.* (2013) [251] or Udert and Wächter, (2012) [239] at lower NLR. Three exceptions were observed at days 40, 50 and 81 where the TOC removal rates significantly decreased, with higher concentrations measured in permeate samples. At day 40, as described earlier, the increase of NO₂⁻ concentration may have led to an increase of BAP released as an answer to a stress factor, inducing TOC removal rate reduction. At day 50, urine precipitated in the feed pipe, resulting in a lack of substrate mostly impacting heterotrophic biomass as the low COD/TN ratio may have induced a more fragile heterotrophic biomass stability in comparison to the autotrophic biomass. At day 81, the decrease of the TOC removal rate could be explained by the lowest COD/TN ratio (< 0.5) of urine (Figure E.2), which induced a lack of substrate for heterotrophic biomass and thus a decrease of MLSS and MLVSS concentrations (Figure VI.3a and Figure VI.2c).

Autotrophic bacteria are responsible for nitrification in the MBR. Figure VI.3b shows the nitrification efficiency over time within the MBR. The nitrification efficiency evaluates the fraction of TN in the feed that was converted into nitrates NO₃⁻. After the first five days, a nitrification efficiency of up to 98% was reached irrespective of the NLR range confirming that autotrophic bacteria had been acclimated to urine. An exception was observed at the end of phase 1 where nitrification efficiency decreased below 90%. As a result, for better management of MBR urine nitrification, NLR must be slightly increased in order to avoid a

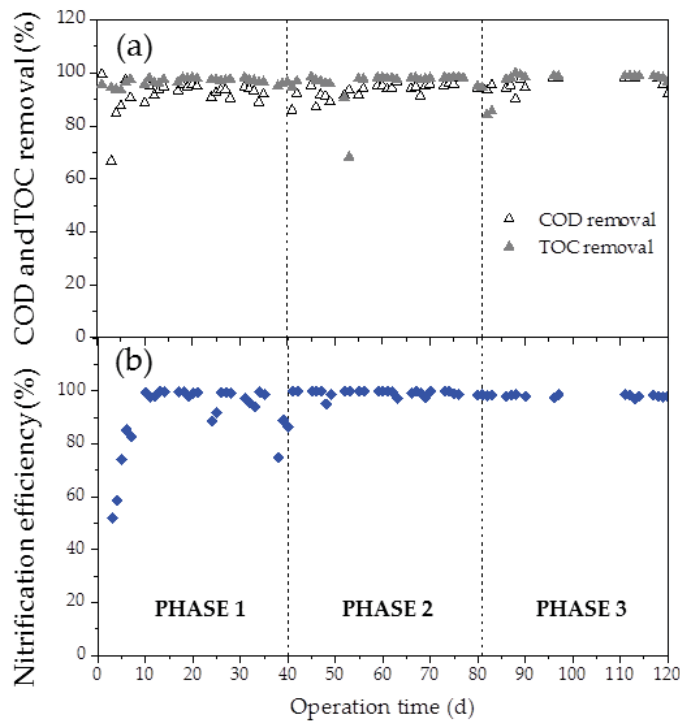


Figure VI.3 – (a) COD and TOC removal rates and (b) nitrification efficiency in the lab-scale MBR over time

drop in nitrification efficiency because of autotrophic biomass inhibition. Besides, it is worthy of note that even with a NLR as high as $1.6 \text{ kgTN/m}^3/\text{d}$, the nitrification efficiency remains at over 98%. Some NH_4^+ can however be measured in the system owing to an eventual instability of the biomass (disequilibrium between NOB and AOB could occur), which can be solved by decreasing NLR (Figure VI.2a).

3.1.2 MBR permeate quality

The average permeate quality results presented in Table VI.5, correspond to the stable period (day 81 to 120). Unstable urine (due to high urea concentration) was converted into stabilized nitrates without accumulation of intermediate compounds (NO_2^- , NH_4^+) [253]. Organic matter (Table VI.5) was drastically reduced. Nevertheless, depending on the possible applications of reuse (e.g., toilet flush, fertilizer) and due to the high permeate conductivity, post-treatment may be needed for salt management.

Table VI.5 – MBR average permeate quality in terms of pH, conductivity, COD, TOC, NO₃⁻, NO₂⁻ and NH₄⁺ during phase 3, corresponding to the stable period after acclimation

pH	Conductivity (mS/cm)	COD (mgO ₂ /L)	TOC (mgC/L)	NO ₃ ⁻ (mgN/L)	NO ₂ ⁻ (mgN/L)	NO ₄ ⁺ (mgN/L)
7.0 ± 0.2	12 ± 2	49 ± 11	21 ± 5	1200 ± 160	0.0 ± 0.0	38 ± 12

3.2 DOM fate within the MBR

In order to investigate and understand DOM fate during biological oxidation and membrane filtration, DOM monitoring was performed in the feed, bulk supernatant and permeate.

3.2.1 Comparison between influent urine and bulk supernatant

LC-OCD-OND-UVD analyses were realized to describe the size and nature of compounds found in urine collected from source-separated toilets (Table VI.6).

Table VI.6 – LC-OCD-OND organic carbon and nitrogen concentrations measured in BP_{OCD/OND} (DOC, DON and C/N ratio), HS+BB_{OCD}, LMW-A_{OCD} and LMW-N_{OCD} fractions of urine samples taken at different operating days (n=7)

Day	Urine sample	BP _{OCD/OND}			HS+BB _{OCD}	LMW-A _{OCD}	LMW-N _{OCD}
MW		> 20,000 Da			1,000 - 300 Da	< 350 Da	< 350 Da
	DOC (mgC/L)	DOC (mgC/L)	DON (mgN/L)	C/N	DOC (mgC/L)	DOC (mgC/L)	DOC (mgC/L)
6	2543	52	33	2	337	93	2061
13	3414	310	30	10	1516	596	992
20	1076	105	20	5	325	90	556
27	1001	37	20	2	333	65	565
40	379	28	17	2	164	88	99
66	354	36	24	1	169	60	89
81	1711	14	6	2	499	450	748
Mean value	1497	83	21	3	478	206	730
Standard deviation	1140	104	9	3	472	221	672

Table VI.6 confirms the variability in real effluents quality : urine samples are heterogeneous in terms of total DOC concentration, as well as DOC concentrations within each fraction. Nevertheless, urine dissolved organic matter (UrDOM) was mostly constituted of compounds with a molecular weight lower than 1,000 Da (Figure VI.5 and Table VI.6). The most represented compounds were humic-like substances and building blocks (HS+BB_{OCD}), low molecular weight neutrals (LMW-N_{OCD}) and low molecular weight acids (LMW-A_{OCD}), representing 34.5 ± 11.9%, 44.7 ± 20.3% and 14.6 ± 8.7% of the total DOC, respectively (Figure VI.5 and Table VI.6). Interestingly, biopolymers (BP_{OCD}) were also detected, but represented

only $6.1 \pm 3.9\%$ of the total DOC. The presence of biopolymers in urine is possible in some cases such as bacterial development in the collecting tank or urine coming from sick donors. For instance, sugars can be found in the urine of diabetics [254].

In order to compare urine DOM with bulk supernatant DOM, UrDOM concentrations were divided by the feed dilution rate to obtain the influent UrdOM concentration (Table VI.3 and Figure VI.4a).

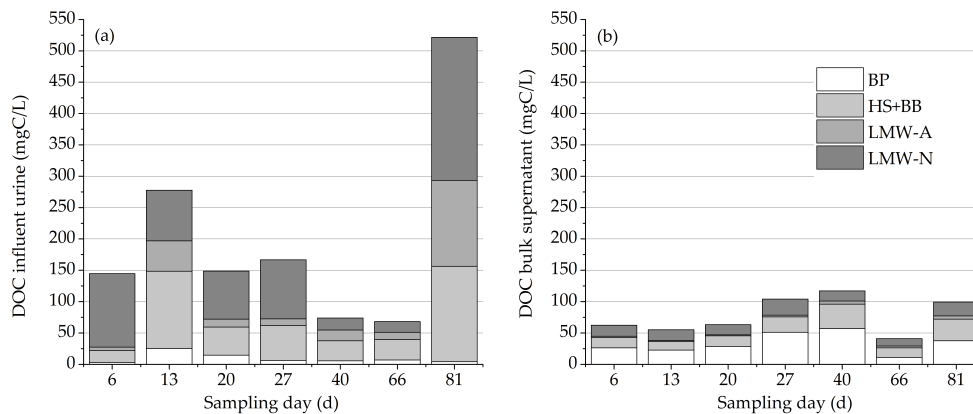


Figure VI.4 – Comparison between BP_{OCD} , $HS+BB_{OCD}$, $LMW-A_{OCD}$ and $LMW-N_{OCD}$ in (a) influent urine and (b) bulk supernatant concentrations measured using LC-OCD

Whatever the sampling day, $HS+BB_{OCD}$, $LMW-A_{OCD}$ and $LMW-N_{OCD}$ concentrations measured in the influent were considerably reduced within the MBR, with reduction rates of $84 \pm 12\%$, $62 \pm 22\%$ and $70 \pm 25\%$, respectively (Figure VI.4a and Figure VI.4b). Thus, these compounds were mainly biologically transformed, despite important instabilities at day 40 and day 81 (see section 3.1). However, as organic carbon removal was not complete, remaining compounds could come from influent or from biological activity (UAP or BAP) [29]. On the other hand, DOM production is clearly visible in Figure VI.4, where BP_{OCD} concentrations are higher in BS samples than in the influent urine. Due to their high molecular weight, BP_{OCD} probably accumulated within the MBR as their concentration increases over time. However, between day 40 and day 66, BP_{OCD} concentrations decreased from 56.9mgC/L to 11mgC/L confirming also the BP_{OCD} biological consumption. Indeed, this specific period corresponded with the transition between phase 1 and phase 2, where the NLR was decreased from $0.73\text{kgTN/m}^3/\text{d}$ to $0.3\text{kgTN/m}^3/\text{d}$ to initiate a new acclimation phase due to nitrification instabilities (Figure VI.2). Substrate limitation could have led to active biomass starvation, resulting in BP_{OCD} consumption [221], [79]. This highlights the possible storage of UAP in case of starvation, explaining the high adaptation capacity of active biomass in the MBR.

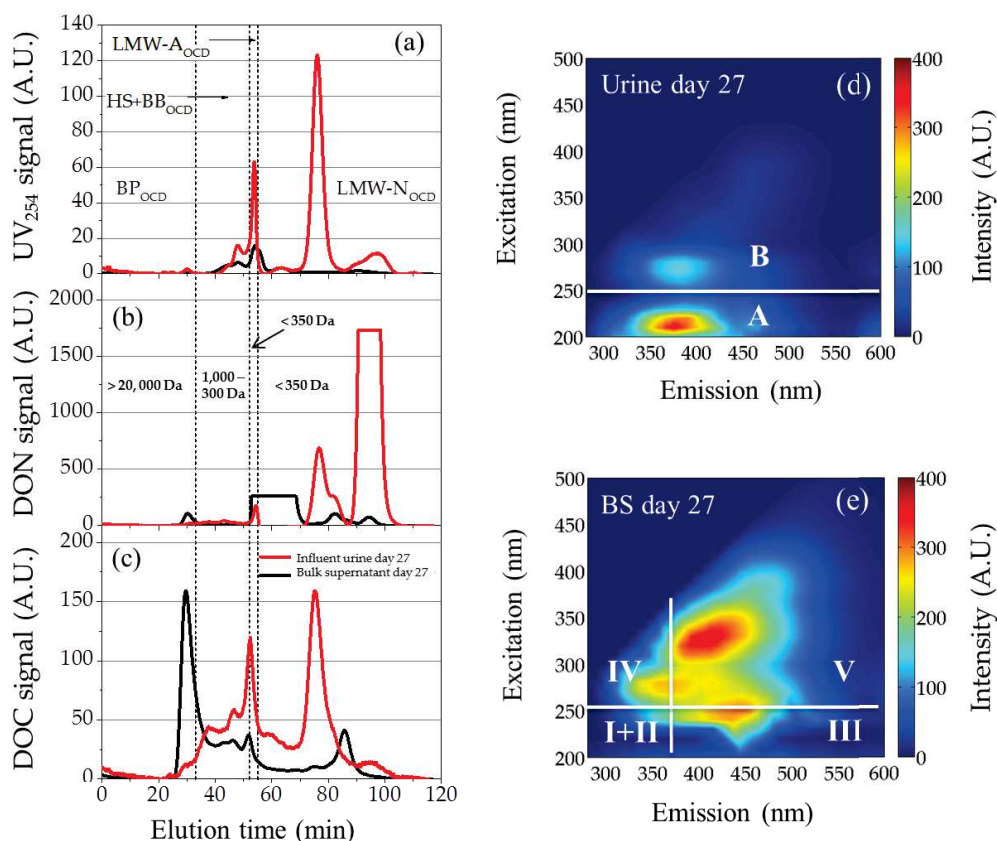


Figure VI.5 – UV₂₅₄ signal (a), DON signal (b) and DOC signal (c) obtained analysing urine (red line) and bulk supernatant (BS) (black line) samples taken at day 27 using LC-OCD-OND-UVD, compared with their respective 3DEEM spectra (d) Urine day 27 and (e) BS day 27

To further characterize UrDOM and DOM compounds from BS samples, their respective UV₂₅₄, DON and DOC chromatograms were compared at day 27 (Figure VI.5 a, b and c). This sampling day corresponds with a period of complete nitrification by acclimated biomass.

- DOC chromatograms confirm Figure VI.4 results. Hence, influent urine consumption generate SMP production and more specially BP_{OCD} containing a low amount of nitrogen and aromatic moieties (Figure VI.5b and Figure VI.5a).
- On the DON influent urine chromatogram (Figure VI.5b), a peak reaching 1750A.U (saturated signal) and eluting between 90 and 100min was detected. This peak was barely visible in DOC and UV chromatograms. This peak corresponded to NH₄⁺ ions found in urine [5]. Moreover, this peak was reduced from 1731A.U. to 76A.U. in the bulk supernatant, corroborating the nitrification process efficiency (96% versus 99% using ionic chromatography).
- In the Huber *et al.* (2011) [5] study, the OND peak eluting before the NH₄⁺ peak corres-

ponded to NO_3^- ions. However, in our investigation this peak (between 70 and 90min) did not correspond to NO_3^- ions since less than $5 \text{ mgN-NO}_3^-/\text{L}$ were found in urine (Table E.1 in supplementary data). Moreover, OND and UVD peaks were detected at the same elution time, which wasn't observed in the Huber *et al.* (2011) study [5]. Thus, compounds detected between 70 and 90min were LMW-N compounds containing aromatic moieties absorbing UV_{254} light.

- On the contrary, bulk supernatant OND peak eluting between 50 and 70min, showing a saturated signal, probably corresponded to NO_3^- compounds produced during nitrification.
- Concerning $\text{HS+BB}_{\text{OCD}}$, both urine and bulk supernatant $\text{HS+BB}_{\text{OCD}}$ compounds were aromatic moieties that presented N-compounds.

To further understand DOM fate within the MBR, 3DEEM spectra of urine and BS were compared in Figure VI.5d and Figure VI.5e.

- UrDOM fluorescing compounds presented specific fluorophores that didn't correspond to the cartography described by Chen *et al.* (2003) [3]. The new peaks identified were called peak A ($\text{Ex} = 200\text{-}250\text{nm}/\text{Em} = 280 - 600\text{nm}$) and peak B ($\text{Ex} = 250\text{-}500\text{nm}/\text{Em} = 280 - 600\text{nm}$).
- When comparing influent urine spectrum with BS spectrum, peak A totally disappeared and peak B seemed blueshifted, while new peaks were visible in regions III and V (Figure VI.5d and Figure VI.5e).
- The new fluorescent footprint observed for BS spectrum confirmed DOM transformation within the MBR and that influent urine fluorescing molecules are no longer present in BS.

3DEEM use confirmed UrDOM consumption and SMP secretion within the MBR; it was consequently used as a direct indicator of biomass activity. Hence, the fluorescing DOM evolution in function of time was monitored by calculating the volumes of fluorescence in region IV (SMP-like3DEEM) and regions III and V (FA+HA-like3DEEM). To estimate the effect of NLR on fluorescing DOM, SMP-like3DEEM and FA+HA-like3DEEM was plotted against NLR. The resulting correlations are visible in Figure VI.6.

Different observations can be made from Figure VI.6a and Figure VI.6b :

- A significant linear correlation between $\text{SMP-like}_{3\text{DEEM}}$ and NLR is visible Figure VI.6a, with R^2 , r_{pearson} and p-value equal to 0.866, 0.935, $1.3 \cdot 10^{-8}$, respectively. Thus, the higher the NLR, the higher the $\text{SMP-like}_{3\text{DEEM}}$. This confirms that biomass activity is directly

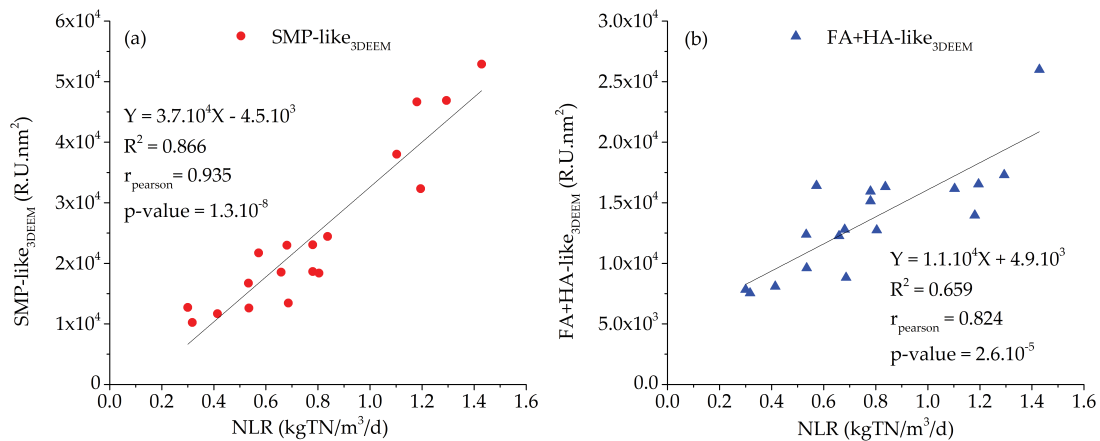


Figure VI.6 – Evolution with time of the bulk supernatant volume of fluorescence (R.U.nm²) calculated in (a) region IV (SMP-like_{3DEEM}, red circles) and (b) region III+V (FA+HA-like_{3DEEM}, blue triangles) (n = 18), as a function of NLR

linked to NLR, leading to the secretion of UAP fluorescing in the SMP-like region.

- Concerning FA+HA-like_{3DEEM}, the correlation with NLR is less significant ($R^2 = 0.659$, $r_{\text{pearson}} = 0.824$ and $p\text{-value} = 2.6.10^{-6}$). This is mostly due to the FA+HA-like_{3DEEM} value measured for an NLR of 1.42kgTN/m³/d, corresponding to day 81. This day was characterized by biomass and nitrification instabilities (Figure VI.6b). MLVSS values in fact dropped during this period (Figure VI.2c). Compounds containing FA+HA-like fluorophores, probably humic-like substances, could therefore be associated with BAP, which is consistent with other studies that identified important amounts of humic substances in BAP [81]. Consequently, FA+HA-like_{3DEEM} is an indicator of active biomass stress and BAP production.
- The different slopes observed for both correlations indicate that production mechanisms are different between compounds containing SMP-like and FA+HA-like fluorophores. Indeed, the correlation slopes indicate fluorophore production rate per kgTN/m³ treated by the active biomass. Thus, SMP-like compounds increased faster in the MBR than FA+HA-like compounds. This is consistent with the hypotheses that SMP-like are UAP and FA+HA-like are probably BAP.

In conclusion, 3DEEM fluorescence is a very interesting tool to follow biomass activity during biological treatment. Combined with other indicators, it could help in further controlling biological treatment or membrane fouling.

3.2.2 DOM membrane retention

Beyond the biological treatment effect on DOM, membrane retention is of major interest to estimate SMP accumulation in the MBR as well as the effect of DOM on membrane filtration and permeate quality. To study DOM membrane retention, bulk supernatant and permeate LC-OCD-OND-UVD chromatograms and 3DEEM spectra were compared in Figure VI.7.

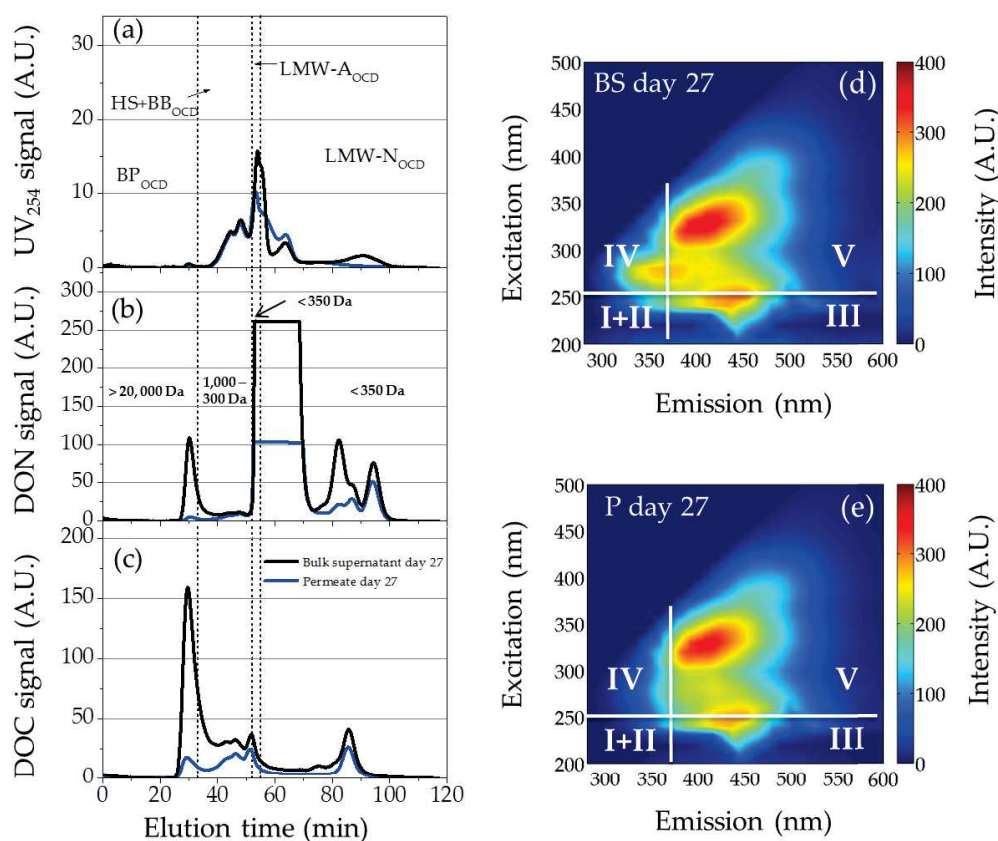


Figure VI.7 – UV₂₅₄ signal (a), DON signal (b) and DOC signal (c) obtained analyzing bulk supernatant (BS) (black line) and permeate (blue line) samples taken at day 27 using LC-OCD-OND-UVD, compared with their respective 3DEEM spectra (d) BS day 27 and (e) Permeate day 27

From Figure VI.7a, different observations can be made concerning DOM transformation and its nature :

- From DOC and DON chromatograms (Figure VI.7b and VI.7c), it can be observed that among the several studied fractions, BP_{OCD} appeared to be the most retained fraction. This is in agreement with BP_{OCD} molecular weight, probably leading to BP_{OCD} accumulation in the system.

- The other fractions, with lower molecular weights, were less retained by the membrane. However, slight retention is possible through adsorption phenomena for HS+BB_{OCD} fraction or due to the development of biofilm decreasing membrane cut-off and participating to DOM degradation [255], [132].
- Surprisingly, the LC-OND peak corresponding to NO₃⁻ ions decreased after membrane filtration (Figure VI.7b). This could be explained by signal saturation including an analytical bias between the two DON chromatograms (Figure VI.7b).

On the other hand, Bulk supernatant and permeate 3DEEM spectra confirm the retention of compounds fluorescing in region IV (SMP-like fluorophores), while other fluorophores were poorly retained (Figure VI.7d and Figure VI.7e). This point strongly emphasizes the possible SMP-like compound propensities to form external fouling [65], [53]. Comparing these results with LC-OCD chromatograms (Figure VI.7c), it can be hypothesized that SMP-like fluorophores are contained in BP_{OCD} fraction and, more precisely, the proteins from BP_{OCD}, since polysaccharides cannot be detected using 3DEEM [96]. This confirms the aforementioned hypothesis concerning SMP-like compound fouling propensities. Concerning other fluorescing compounds, no direct link was established with DOC chromatograms. However, 3DEEM peaks detected in Regions III+V were already identified as microbial humic-like substances secreted during the biological treatment and detected in the HS+BB_{OCD} fraction in a previous study [6], which is consistent with the hypothesis that FA+HA-like compounds are BAP.

To further estimate DOM impact on membrane fouling, 3DEEM and LC-OCD membrane retentions were calculated using the concentrations and volumes of fluorescence measured in both bulk supernatant and permeate. These results are presented in Figure VI.8.

- Protein (PN) and polysaccharide (PS) from BP_{OCD} and SMP-like_{3DEEM} membrane retention increased with time, meaning that during the lab-scale MBR operation, the bigger biopolymers tended to accumulate in the MBR. This phenomenon could impact membrane filtration through external accumulation (Figure VI.8a and Figure VI.8b).
- On the other hand, it was observed that the membrane retention of proteins (PN) from BP_{OCD} and SMP-like_{3DEEM} were very different (PN from BP_{OCD} and SMP-like_{3DEEM} membrane retentions ranged from 79 to 97% and 9 to 64%, respectively). This statement implies that only a portion of PN from BP_{OCD} had SMP-like fluorophores, while the other

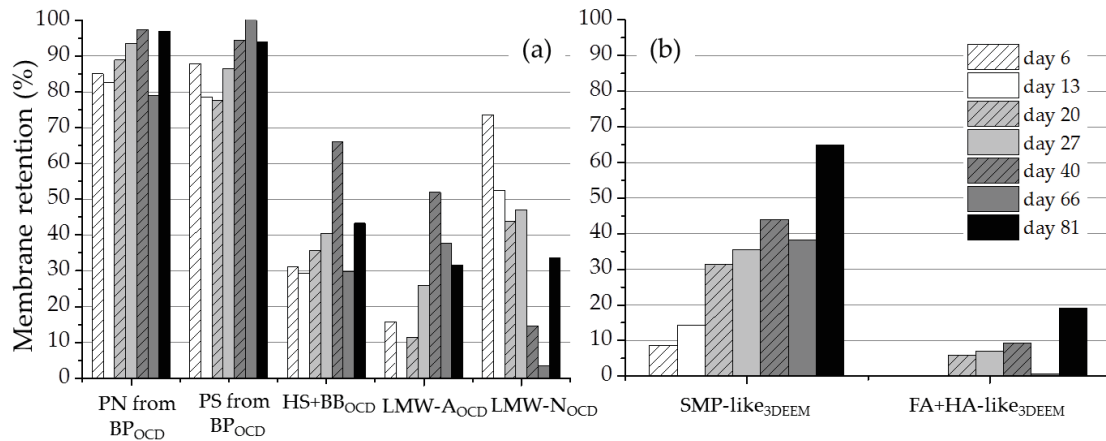


Figure VI.8 – Membrane retention of (a) the LC-OCD concentrations in proteins from biopolymers (PN from BP_{OCD}), polysaccharides from biopolymers (PS from BP_{OCD}), HS+BB_{OCD}, LMW-A_{OCD} and LMW-N_{OCD} and (b) the volumes of fluorescence in region IV (SMP-like_{3DEEM}) and region III+V (FA+HA-like_{3DEEM}), corresponding to the samples taken at different operating days described in Table VI.3 (n=7)

proteins did not fluoresce. Indeed, only (Phenylalanine, Tryptophane and Tyrosine) out of the twenty one amino acids are fluorescent. Consequently, the link between membrane fouling and fluorescent DOM does not appear to be directly related in this study and should be further studied.

- A similar observation could be made between HS+BB_{OCD} and FA+HA-like_{3DEEM} membrane retentions. Thus, a small amount of HS+BB_{OCD} might contain FA+HA-like fluorophores.
- Surprisingly, low molecular weight fractions (LMW-A_{OCD} and LMW-N_{OCD}), were found to be slightly retained by the membrane. This could be explained by adsorption phenomena or the establishment of a biofilm decreasing membrane cut-off and participating in smaller DOM fractions retention [17], [255], [132].

4 Conclusions

- This study has shown that a lab-scale MBR could be fed with fresh urine collected from source-separated toilets to perform efficient nitrification. From the first days of acclimation until the stable phase, the average nitrification rate was $98.3 \pm 0.5\%$ while a nitrogen loading rate of $1.2\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}$ was achieved. This excellent performance (in comparison to existing literature) is due to MBR specific features : high molecular compound retention, free and attached biomass retained in the bulk and increased SRT.
- Despite intense biomass activity, microorganisms were very sensitive to NLR shocks and

urine composition variations (COD/TN ratio drop). For a better nitrification process control, NLR increase should therefore be performed slightly to avoid NH_4^+ and NO_2^- inhibition. A progressive increase in NLR of $0.03\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}/\text{d}$ was successfully tested, while an increase of $0.04\text{kgTN}/\text{m}^3/\text{d}/\text{d}$ led to nitrification instabilities. In case of biomass instabilities, a decrease of NLR is required to maintain the biomass active. However, without NLR shocks, the activated sludge was easily acclimated to urine despite the low COD/TN ratio, high TN concentration and high salinity.

- To understand DOM fate within the MBR, UrDOM was first compared to DOM in MBR bulk supernatant using 3DEEM and LC-OCD. From this identification, it was concluded that urine compounds were fully degraded and led to the production of SMP. A significant linear correlation was observed between SMP-like_{3DEEM} and NLR, implying that important UAP secretion occurred during urine treatment. These UAP were easily degradable as they were consumed during the starvation phase (transition phase 1 and phase 2), highlighting their potential storage role, stabilizing the active biomass in the MBR. On the contrary, FA+HA-like_{3DEEM} was a BAP indicator since it was subject to an important increase during the biomass decay phase. 3DEEM is therefore an interesting indicator to follow active biomass activity and acclimation.
- The comparison between DOM from the bulk supernatant with DOM from the permeate helped in figuring out the impact of membrane retention on DOM fractions. BP_{OCD} fraction and SMP-like_{3DEEM} compounds were the most retained and should be linked to external fouling phenomena due to their molecular weight. On the other hand, HS+BB_{OCD} fraction and FA+HA-like_{3DEEM} compounds were also partially retained, probably due to adsorption, biofilm development, reduction of membrane cut-off. These compounds therefore probably increase membrane internal fouling and modify membrane surface properties. This particularity could lead to interactions with other compounds such as biopolymers, increasing fouling phenomena[65], [143].
- Monitoring DOM fate with the MBR could help in further understanding SMP secretion by active biomass. This aspect is crucial for process optimization and membrane fouling control. 3DEEM was shown to be a relevant indicator to follow biomass activity and is indicative to internal and external foulants. Moreover, the potentiality for on-line implementation of this analytical tool was already emphasized in several studies [101], [93], [4]. These two statements confirm the interest of using 3DEEM for MBR process monitoring

and potential control.

5 Implications et perspectives

Cette étude, a montré dans un premier temps l'intérêt majeur d'un traitement par Bàm d'urines séparées à la source. En utilisant un Bàm, une nitrification poussée a été réalisée, en traitant des charges plus élevées que celles observées dans la littérature pour des systèmes conventionnels à biomasse libre (boues activées) ou fixée (biofiltre, lit bactérien). Cette augmentation des capacités de stabilisation de l'urine est liée à l'utilisation de la séparation membranaire, qui permet de sélectionner et de maintenir des microorganismes épurateurs adaptés à de telles charges, en favorisant leur croissance [256]. Néanmoins, un trop faible C/N dans l'effluent à traiter ne permet pas d'assurer une dénitrification complète [156], [229]. Ainsi, des traitements complémentaires doivent être appliqués s'il y a par la suite une réutilisation de l'eau comme source secondaire d'eau douce. Toutefois, cette alternative offre une perspective particulièrement intéressante pour l'agriculture. En effet, les ressources en azote et en phosphore se tarissant, recycler les nutriments est une préoccupation majeure [234], [235]. L'emprunte au sol et les systèmes d'adduction des eaux usées vers les stations d'épuration, localisées à l'extérieur de la ville, sont également une problématique liée à la gestion du traitement de l'eau actuelle. Ainsi, développer des systèmes de traitement décentralisés des eaux usées, tels que des Bàm, est envisageable à des échelles individuelles ou d'un immeuble par exemple.

Le suivi de la DOM par 3DEEM permet de mettre en évidence la diversité des microorganismes présents dans les systèmes d'épuration biologiques. Pour cela, les spectres de 3DEEM obtenus sur le surnageant de boues activées de la STEP de Saint Clément de Rivière (BA), le pilote Bàm traitant des urines et la STEP de La Grande-Motte (Bàm) ont été comparés Figure VI.9. Chaque empreinte de fluorescence observée est spécifique aux systèmes étudiés. Ainsi, la présence d'une barrière membranaire induit de plus fortes concentrations en composés fluorescents (intensité plus élevée), en particulier pour les composés qui fluorescent dans la Région V (HA-like). Ceci est sans doute lié à la rétention membranaire et au découplage entre HRT et SRT. La nature de l'effluent traité impacte également la nature de la DOM sécrétée. En effet, au bout de six jours d'alimentation avec de l'urine, l'empreinte de fluorescence observée dans l'inoculum du Bàm à l'échelle pilote (Figure VI.9a) est fortement modifiée (Figure VI.9b). Ceci est dû à la pression de sélection liée à la nature de l'effluent ce qui est confirmé en comparant la Figure VI.9b et la Figure VI.9c, qui correspondent à des

spectres de 3DEEM provenant des Bàm pilote et de La Grande-Motte, traitant des effluents différents. Les empreintes de fluorescence sont donc effluent- spécifiques, confirmant le fait que la méthode développée dans le Chapitre IV, ne puisse s'appliquer à d'autres systèmes sans être précédée d'une calibration. Si un suivi en ligne de 3DEEM est envisagé, il est nécessaire de procéder à une calibration qui sera système-spécifique.

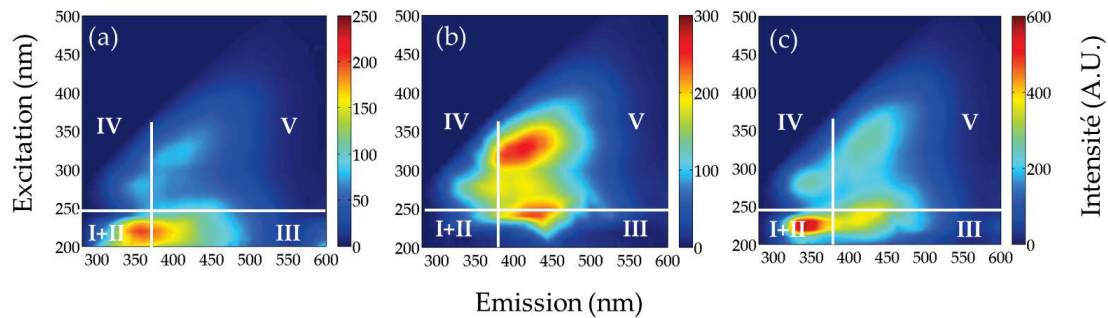


Figure VI.9 – Spectres de 3DEEM de (a) l'inoculum du Bàm à l'échelle pilote traitant des urines provenant du procédé boues activées de la STEP de Saint-Clément de Rivière, (b) surnageant des boues prélevé au 6ème jour de fonctionnement dans Bàm à l'échelle pilote traitant des urine et (b) surnageant de boues prélevé à la station d'épuration de LGM

En analysant les urines en entrée et le surnageant du pilote par LC-OCD-OND-UVD et 3DEEM, la transformation de la DOM a été mise en évidence. Ainsi, les composés organiques contenus dans l'urine sont principalement des petites molécules facilement biodégradables qui sont consommées par les bactéries. En contrepartie celles-ci sécrètent des biopolymères et des HS+BB, qui fluorescent dans les zone SMP-like et FA+HA-like, respectivement. Ainsi, les volumes de fluorescence associés à ces régions ont été utilisés comme indicateurs de l'activité bactérienne. Le volume de fluorescence de la zone SMP-like était directement corrélé avec la NLR en entrée, montrant que les composés associés à ces fluorophores sont des UAP. Plus la charge est grande, plus il y en aura dans le Bàm. Concernant les FA+HA-like, une moins bonne corrélation a été mise en évidence avec la NLR, impliquant que ces composés ne sont pas directement fonction de la charge, mais peuvent dépendre d'autres mécanismes. Ceci est confirmé par le fait qu'une phase de diminution de MES s'est accompagnée par une forte augmentation du volume de fluorescence dans la zone FA+HA-like. Les composés qui fluorescent dans cette zone sont donc des BAP.

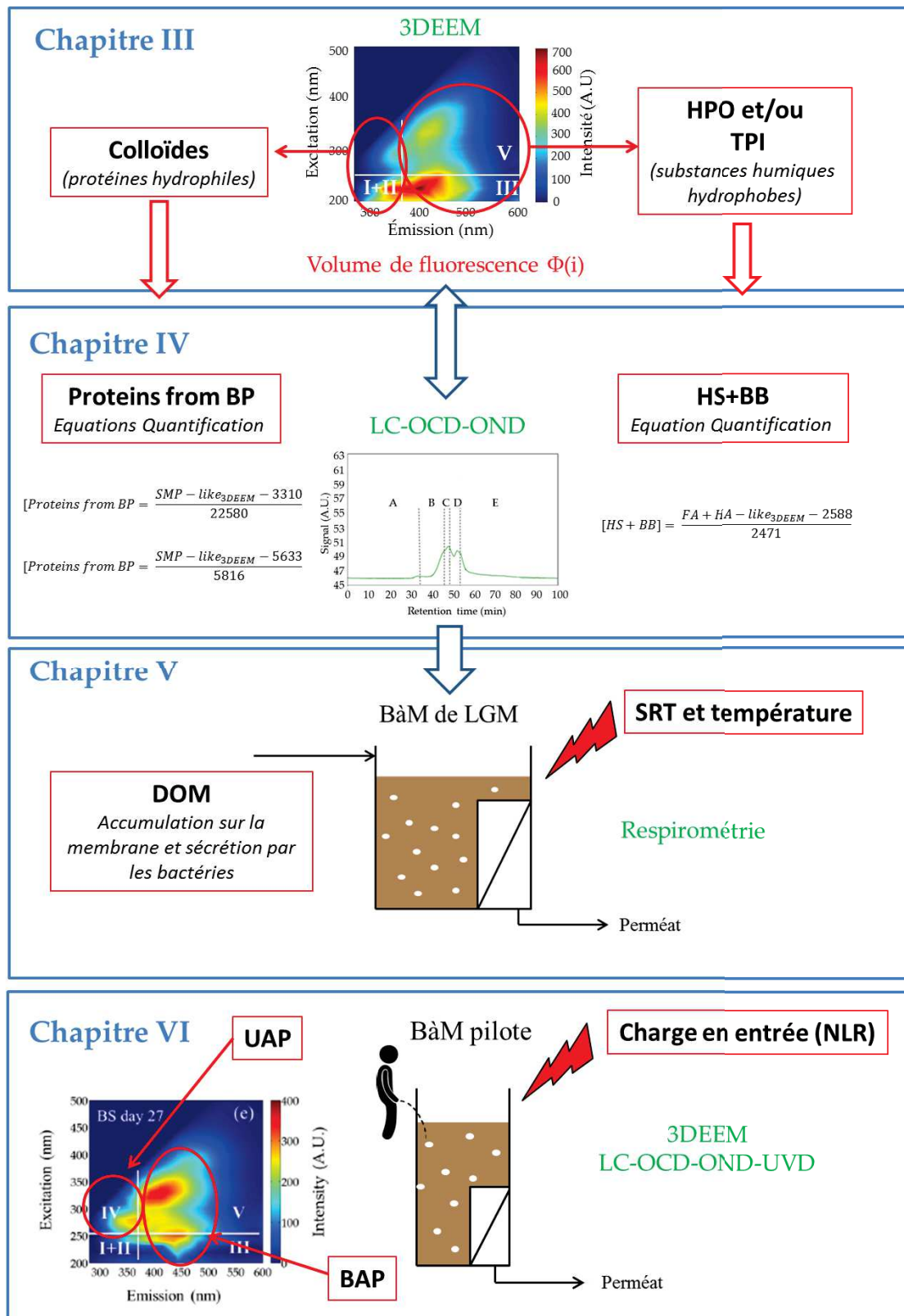


Figure VI.10 – Liens établis entre la DOM mesurée par 3DEEM et les aspects du procédé B&M étudiés

En comparant les rétentions membranaires, il a été montré que seule une partie de la DOM était fluorescente, contrairement à ce qui a été montrée pour l'étude de La Grande-Motte (Chapitre V). Ceci pourrait s'expliquer par la nature de l'effluent, mais aussi par la phase d'acclimatation. En effet, la proportion de DOM fluorescente était de plus en plus grande au cours du temps. Le ratio F/M élevé du fait de la charge importante, favorisant le métabolisme de respiration exogène et la croissance bactérienne, pourrait favoriser la mise en place et l'accumulation de composés non fluorescents et de taille importante comme les polysaccharides retrouvés dans la fraction BP de la LC-OCD-OND (> 20 kDa). Par conséquent, il est nécessaire de prendre en compte le fait que la 3DEEM est un indicateur partiel de la DOM (notamment du fait que seul la partie fluorescente de la DOM est détectée par cette technique) qui doit faire l'objet d'une étude spécifique à chaque système, avant de prétendre à un suivi en ligne pour le contrôle du colmatage.

Toutefois, à la fin de la mise en œuvre du pilote Bàm, la membrane a été retirée et a subi 4 étapes de lavages successives d'après le protocole décrit dans la thèse de Ameni Lahdhiri (2015) [45] :

- Rinçage à l'eau pour collecter le biofilm (lavage mécanique).
- Bain avec une solution de soude à 4g/L pendant 3h (lavage chimique).
- Bain avec une solution d'acide citrique à 22g/L pendant 3h (lavage chimique).
- Bain avec une solution d'eau de javel à 2g/L pendant 2h (lavage chimique).

Les solutions de lavages ont été prélevées et analysées par 3DEEM pour vérifier si le dépôt membranaire observé pouvait effectivement être caractérisé par les indicateurs identifiés et étudiés au cours de cette thèse (Figure VI.11).

D'après la Figure VI.11, la solution de rinçage à l'eau (biofilm collecté par lavage mécanique) contient les fluorophores caractéristiques des Proteins from BP. Concernant les solutions correspondant aux lavages chimiques, la même observation peut être faite pour les HS+BB.

Ainsi, bien que ce soit des indicateurs qui peuvent être partiels, les indicateurs de fluorescence développés lors de cette thèse sont en adéquation avec l'étude des colmatages externe et interne dans un Bàm.

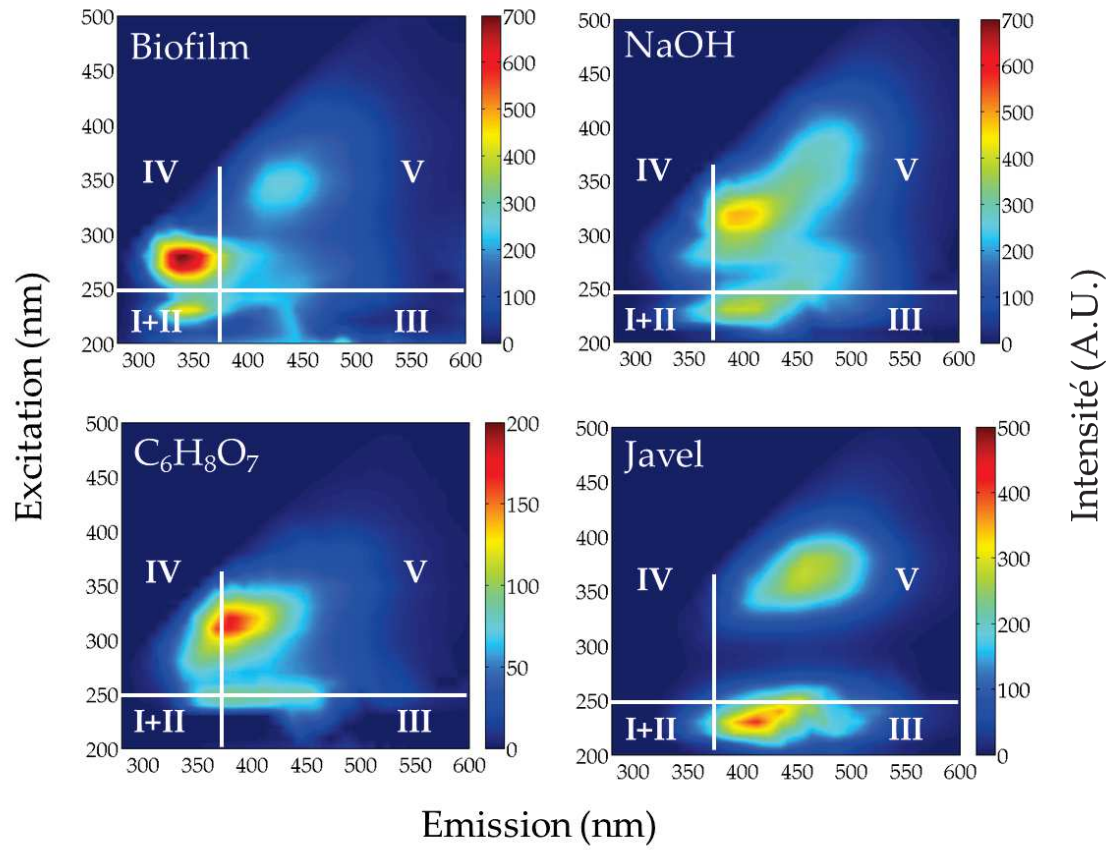


Figure VI.11 – Spectres de 3DEEM des solutions de rinçage (Biofilm) et de lavages chimiques (NaOH, C₆H₈O₇ et javel)

Chapitre VII

Conclusions générales

L'objectif principal de ces travaux de thèse était de mieux comprendre l'impact du colmatage par la matière organique dissoute (DOM), lors de la filtration membranaire d'une suspension liquide de type boues activées, mise en œuvre pour le traitement des eaux usées domestiques. Pour y parvenir, il s'agissait d'identifier les composés contenus dans la DOM de surnageant de BâM et de définir des indicateurs robustes et rapidement accessibles pouvant être implémentés en ligne pour envisager un contrôle en amont du colmatage.

Depuis plusieurs décennies, la problématique liée à la filtration membranaire de suspensions aqueuses contenant des bactéries épuratrices, fait l'objet de nombreuses études scientifiques. Les avancées sur les techniques de limitation ou de contrôle du colmatage (Biofilm-MBR, MCP, turbulence hydraulique, action enzymatique, QQ) ou sur les matériaux membranaires ont fortement contribué à améliorer l'étape de séparation membranaire. Néanmoins, la DOM est principalement sécrétée par la biomasse, dont l'activité ou le décès dépendent du design et du choix du procédé (aération, flux appliqué, type de module membranaire), des conditions opératoires appliquées (SRT, HRT, charge appliquée) et environnementales subies (température). Ainsi, une autre façon de contrôler le colmatage serait de mettre en place des méthodes de suivi en ligne de la DOM, pouvant être mises en lien avec les conditions opératoires appliquées pour permettre un asservissement de certaines conditions, tels que le séquençage de l'aération, le flux de filtration, le HRT ou le SRT. C'est pour répondre à ces objectifs que les travaux de cette thèse ont été réalisés et présentés dans ce manuscrit en quatre chapitres.

Le Chapitre I présente le fractionnement de boues activées de BâM et d'eaux usées à traiter et l'identification des principaux composés de la DOM et de leurs propriétés colmatantes en fonction de leur taille et de leur hydrophobicité : Colloïdes, HPO et TPI. L'approche expérimentale de cette étude reposait sur un fractionnement par dialyse et par résines XAD, suivi de tests de filtrations, comportant des étapes de lavages mécaniques, réalisés sur les fractions isolées et leur mélange. A partir de cette étude, plusieurs résultats ont pu être mis en évidence :

- Cette étude a permis de réaliser une caractérisation poussée des fractions isolées du surnageant de boues activées. Pour cela, la LC-OCD, 3DEEM et THM-GC/MS, ont été utilisées de façon complémentaire pour décrire les composés présents dans les fractions, dont la taille et la nature sont déterminantes dans les mécanismes de colmatage.

- Les colloïdes, molécules hydrophiles de grande taille (> 20kDa), ont été identifiées comme principalement responsables de la chute de flux lors de la filtration membranaire, mais celle-ci pouvait être contrôlée par la mise en place de lavages mécaniques.
- Les molécules transphiliques (TPI) et les molécules hydrophobes (HPO), contribuaient quant à elles à un colmatage plus irréversible mais impactant peu la perte de perméabilité en cours de filtration.
- En mélangeant les fractions, la validité de la méthode de fractionnement a pu être démontrée par comparaison des tests de filtration des mélanges reconstitués et de comparaison avec les résultats de caractérisation de la DOM brute. Des interactions composés/composés de type synergistique vis-à-vis du colmatage membranaire ont été mises en évidence. En particulier, le mélange de grosses molécules hydrophiles avec de petites molécules hydrophobes modifie fortement les phénomènes de colmatage. Ce sont donc deux fractions qu'il faudrait surveiller, voire contrôler.
- Les analyses de 3DEEM des fractions extraites de la DOM, ont permis de mettre en évidence des indicateurs des différentes fractions. Ainsi, les colloïdes contenaient principalement des fluorophores de types Prot1+2-like et SMP-like, tandis que les TPI et HPO contenaient des fluorophores de types FA-like et HA-like. Ceux-ci ont ainsi été sélectionnés pour le suivi des fractions hydrophiles et hydrophobes.

Cette étude fait partie des rares études de fractionnement réalisées sur du surnageant de boues activées de Bàm et agrémentée de filtrations sur les mélanges de fraction. De même, elle a fait l'objet d'une caractérisation poussée ayant permis de montrer l'intérêt de l'utilisation de la 3DEEM pour le suivi en ligne de la DOM. A ce point de l'étude il a ainsi été nécessaire de trouver une façon d'extraire et d'exploiter les résultats de 3DEEM pour tenter d'obtenir des informations qui ne seraient pas seulement quantitatives.

Dans le Chapitre IV, et à partir des observations présentées dans le Chapitre III, les indicateurs des fractions de DOM ont été étudiés plus en détail, dans le but de les implémenter pour un éventuel suivi en ligne. Pour atteindre un tel objectif, il n'était pas possible d'extraire seulement des données qualitatives ou semi-quantitatives. En effet, pour établir un lien la production de DOM et le colmatage membranaire, les composés la constituant doivent être suivis quantitativement. Ainsi, dans le Chapitre IV, en comparant les résultats de 3DEEM avec ceux obtenus en LC-OCD-OND, il a été possible de mettre en évidence un lien di-

rect entre les informations obtenues par l'utilisation de ces deux techniques, dans le cas du surnageant et de perméat collectés à LGM. Les Proteins from BP quantifiées par LC-OCD-OND, fluoresçaient dans la zone SMP-like. De même, les HS+BB quantifiés par LC-OCD, fluoresçaient dans les zones FA-like et HA-like. Ainsi, après calibration, il a été possible de quantifier les concentrations en Proteins from BP et en HS+BB contenues dans le surnageant et le perméat, en utilisant les volumes de fluorescence calculés dans les zones SMP-like et FA+HA-like, respectivement. Toutefois, les calibrations se sont avérées être site-spécifiques.

Les calibrations effectuées sur les différents fluorophores de la STEP de LGM ont été utilisées dans le Chapitre V pour le suivi de l'évolution des concentrations, et de la composition, de la DOM de la STEP de LGM au cours du temps. Du fait des fluctuations des conditions opératoires observées à LGM, la quantification des Proteins from BP et des HS+BB s'est révélée particulièrement intéressante une fois comparée aux variations de paramètres opératoires et de concentrations en biomasse active.

- Ainsi, le lien entre biomasse active et DOM a permis de mettre en évidence le lien entre SRT et température avec la production de DOM.
- Grâce aux rétentions membranaires et aux concentrations dans le surnageant, les taux de productions des Proteins from BP et de HS+BB ont été comparés. Il a été observé que les HS+BB sont sécrétés 8 fois plus vite en moyenne que les Proteins from BP, ce qui génère une forte accumulation sur la membrane, modifiant ses propriétés de surface et par conséquent les interactions composé/membrane et composé/composé.
- Toutefois, c'est l'accumulation des Proteins from BP qui semblait impacter le plus la résistance membranaire, sans impact évident des variations saisonnières.
- Tandis que l'accumulation des HS+BB, montrait des différences entre les deux périodes de filtrations étudiées.
- Une fois encore, la potentialité de la 3DEEM, pour le suivi en ligne de la DOM, a été mis en avant. En effet, cette technique a permis de suivre les indicateurs de la DOM, peu importe la saison en utilisant des calibrations faites à différents moments de l'année. Ces indicateurs sont ensuite utilisables pour une multitude d'applications pour le suivi de la DOM dans les Bàm.

Ainsi, l'utilisation des calibrations de 3DEEM a permis de suivre des paramètres majeurs

liés à la DOM : taux de production et accumulation sur la membrane. Néanmoins, il n'est pas possible à ce stade de l'étude de tirer des conclusions sur le colmatage membranaire par l'ensemble de ces composés de la DOM, de leurs interactions ou des variations de leurs propriétés colmatantes. Ceci est dû à la complexité du système de LGM, étant une STEP sujette à des variations saisonnières importantes et à un pilotage par des opérateurs soucieux de préserver l'intégrité du fonctionnement de leur système. De plus, malgré des prélèvements réalisés à l'entrée de la STEP de La Grande-Motte, le lien entre la matière organique de l'effluent d'entrée et la DOM du surnageant n'a pas pu être établi. Ce lien définit l'écosystème bactérien des boues activées, mais il permettrait également de discriminer analytiquement les composés alloctones et les composés autoctones. Pour pallier à cela il a donc fallu mettre en place une étude à l'échelle pilote ou la charge en entrée et les paramètres opératoires étaient contrôlés.

Le dernier chapitre (Chapitre VI), visait à mieux comprendre le lien entre la matière organique provenant de l'intrant et la DOM présente dans le surnageant des boues activées du BâM. En effet, les paramètres opératoires ont un impact notable sur la biomasse active en cours de fonctionnement, alors que les propriétés de l'effluent d'entrée, impactent directement le développement du consortium bactérien. Ceci est dû au fait que les propriétés physico-chimiques et les nutriments apportés par l'intrant, exercent une pression sélective sur la biomasse active. C'est dans ce contexte qu'un BâM traitant des urines à l'échelle pilote a été mis en œuvre, pour étudier les variations de concentration et de composition de la DOM.

- Cette étude a permis d'acclimater des boues activées, provenant d'une STEP de type boues activées classiques, à un substrat composé uniquement d'urine. L'acclimation s'est déroulée en trois phases. La première phase consistait en une augmentation progressive de la NLR. Néanmoins, cette augmentation fut trop brusque, entraînant l'accumulation de NH_4^+ et de NO_2^- . La seconde phase consistait en la seconde acclimation après les instabilités de nitrification observées à la fin de la phase 1. Enfin, la phase trois correspond à la phase stable où de très bonnes performances de nitrification ont été mesurées ($98,3 \pm 0,5\%$), ainsi qu'une charge en NLR particulièrement haute ($1,2 \pm 0,2 \text{ kgTN/m}^3/\text{j}$). Par conséquent, il s'est avéré particulièrement intéressant de suivre la DOM pour comprendre l'impact de l'intrant sur sa composition pendant l'acclimation, d'autant plus que les urines sont un effluent particulier (C/N faible et forte conductivité).

- En combinant la LC-OCD-OND-UVD et la 3DEEM, la consommation de la matière organique, suivie d'une production de biopolymères, a été mise en évidence. Cette production, était directement proportionnelle à la charge en azote appliquée en entrée, impliquant que ce sont des UAP. Ceci montre que la charge atteinte n'était pas problématique pour la biomasse active qui s'est acclimatée à la forte salinité et au faible C/N. De plus, les UAP sont également consommés en cas de carence en substrat, ce qui pourrait impliquer qu'ils ont un rôle de réserve pour la biomasse active, facilitant l'adaptation rapide de la biomasse active à des effluents particuliers. En effet, s'ils ont effectivement un rôle de stockage, la barrière membranaire permet de retenir ces composés d'intérêt ayant une taille supérieure au seuil de coupure. Par conséquent, la 3DEEM est un outil puissant permettant de suivre directement l'activité biologique au sein du Bàm.
- La production de composés contenant des fluorophores de type FA+HA-like, n'était pas directement liée à la NLR, impliquant qu'une partie pourrait provenir de la respiration exogène ou de la dégradation des UAP. Néanmoins, lors d'une diminution notable en MES, il a été montré que le volume de fluorescence FA+HA-like3DEEM avait fortement augmenté. Ainsi, les composés qui fluorescent dans la zone FA+HA-like peuvent être des indicateurs des instabilités de la biomasse active.
- L'étude de la rétention membranaire a montré qu'une grande partie de la DOM contenue dans le Bàm ne fluoresçait pas. Néanmoins, la proportion de molécules fluorescente augmentait au cours du temps, ce qui peut signifier qu'en période d'acclimatation il y a moins de molécules fluorescentes.

Ces travaux de thèse ont permis de mettre en évidence l'importance de la mesure de la DOM dans le surnageant de Bàm par 3DEEM pour un suivi en ligne dans les Bàm. Bien que l'information obtenue ne soit pas totale, du fait de la non fluorescence de certains composés, des indicateurs des majeures fractions colmatantes ont pu être mis en évidence. Les indicateurs identifiés ont permis, après une calibration avec la LC-OCD-OND, de quantifier directement les Proteins from BP et les HS+BB contenus dans le surnageant et le perméat d'une STEP Bàm, subissant d'importantes variations saisonnières. Pour estimer le potentiel d'application de ces indicateurs, ainsi que de la méthode d'extraction et exploitation des données, pour envisager la mise en place de mesures de 3DEEM en ligne, ceux-ci ont été mesurés au cours du temps dans la même STEP et comparés à plusieurs paramètres : concentrations en biomasse active, paramètres opératoires et température. Cette étude a

ainsi confirmé l'intérêt de la 3DEEM, notamment pour le contrôle du colmatage membranaire, car il a été possible de calculer des vitesses de production et des accumulations sur la membrane. L'étude à l'échelle pilote a quant à elle permis d'approfondir les connaissances sur la transformation de la DOM dans le procédé, mais aussi sur les façons d'utiliser la 3DEEM. Ainsi, sans calibrations par LC-OCD-OND préalable, la 3DEEM peut être utilisée en prenant directement comme indicateurs le volume de fluorescence calculé dans les zones d'intérêt. Que ce soit à l'échelle de la station d'épuration ou du pilote, la 3DEEM a permis de collecter des données supplémentaires sur la DOM et de les comparer avec les données traditionnellement extraites dans les Bàm. Cet outil, et l'exploitation qu'il en a été faite dans cette étude, sont particulièrement intéressants pour le suivi et le contrôle du colmatage dans les Bàm. En effet, le temps d'analyse est d'environ 15 min, tandis que l'exploitation des données passe par une intégration des spectres facilement automatisée. De plus, dans de nombreuses études il est question d'implémenter la 3DEEM en ligne, mettant en avant l'aspect attractif du suivi de la DOM par cette technique.

La DOM étant au cœur de nombreux phénomènes dans les Bàm, ou dans d'autres procédés du traitement des eaux, le développement de la 3DEEM pourrait contribuer à améliorer la connaissance et la maîtrise de nombreux phénomènes :

- Comme mis en évidence dans le Chapitre III, les mécanismes de colmatage dépendent des interactions existantes entre les différents composés de la DOM, modifiant par conséquent leurs propriétés de colmatage respectives. Il est donc nécessaire de développer des modèles prenant en compte ces interactions. Néanmoins, il n'est pas possible de les quantifier de façon rapide. Toutefois, Wang *et al.* (2015) [107], ont mis en évidence des interactions entre les protéines et les substances humiques par 3DEEM. Xiao *et al.* (2016) [104] ont également développé une méthode pouvant donner une information sur la taille des molécules fluorescentes. Ainsi, les différentes façon d'utiliser la 3DEEM pourraient permettre d'obtenir plus d'informations sur les interactions entre composés pour les intégrer dans les modèles de colmatage.
- La 3DEEM a permis de mettre en évidence le lien entre DOM fluorescente et activité de la biomasse. De plus, les Proteins from BP et les HS+BB ont été quantifiées en utilisant la 3DEEM, permettant de calculer des vitesse de production. Ainsi, cette méthode pourrait remplacer les méthodes analytiques habituellement utilisées pour calibrer les modèles

ASM-SMP, d'autant plus que les mesures de 3DEEM peuvent être réalisées très rapidement. Dans l'étude du Chapitre VI, les SMP-like et les FA+HA-like ont été associés à des UAP et BAP, respectivement, dans le cas d'un effluent de type urine séparée à la source. Pour la calibration des modèles, des tests respirométriques, combinés à de la 3DEEM, avec injection de substrat pourraient être implémentés, pour mieux comprendre l'influence de l'intrant sur l'activité de la biomasse active, ainsi que les chemins réactionnels de la DOM.

- Au cours de cette étude, seuls les SMP du surnageant ont été étudiés. Ceci est en accord avec une perspective de suivi en ligne qui nécessite un nombre minimum d'étapes de préparation des échantillons. De plus, à l'échelle d'une station d'épuration, la membrane n'est pas accessible, il est donc nécessaire d'identifier des indicateurs dans le surnageant, comme ceux développés lors de ces travaux de thèse. Néanmoins, l'étude de l'impact du biofilm dans la sécrétion et la rétention de la DOM au voisinage de la membrane est également un point clé pour comprendre et maîtriser le colmatage. En effet, certains groupes de recherche préconisent de laisser le biofilm se mettre en place, car il améliorerait les capacités de traitement du Bàm, si le procédé est combiné à la mise en place de promoteurs de turbulence (Biofilm-MBR) [18]. Ainsi, l'étude de la DOM dans le biofilm permettrait de mieux comprendre l'impact de sa mise en place sur le colmatage membranaire, en particulier le colmatage irréversible, et la qualité du perméat.
- Dans une perspective de réutilisation des eaux traitées par Bàm, l'étude du comportement la DOM contenue dans le perméat au cours des traitements tertiaires est primordiale. En effet, elle peut engendrer des problèmes de colmatage lors de la filtration par NF et OI. Lors des traitements tertiaires d'oxydation de type ozonation ou chloration, la DOM peut également générer des sous-produits de désinfection, en particulier les molécules hydrophobes [53], [257], [258]. La présence de DOM, pourrait également nécessiter des doses de traitement plus importantes pour l'oxydation du fait de la compétition entre les composés de la DOM peu préoccupants et ceux ciblés [259], [260]. La DOM serait également un support d'adsorption des virus limitant ainsi l'impact des techniques de désinfection par oxydation [261]. Ainsi, le suivi de la DOM dans d'autres procédés que les Bàm est primordial et pourrait être réalisé en utilisant la 3DEEM.

Ainsi, les perspectives de travail pour le suivi de la DOM par la 3DEEM sont nombreuses, que ce soit dans les Bàm ou d'autres types de traitements. Grâce à sa potentielle application

en ligne, la rapidité de l'acquisition des données et une méthode d'extraction et d'exploitation des données (approfondie dans cette étude), cette méthode présente une forte potentialité d'application qui est seulement à l'état initial.

Bibliographie

- [1] M. Kraume, D. Wedi, J. Schaller, V. Iversen, and A. Drews. Fouling in MBR : What use are lab investigations for full scale operation ? *Desalination*, 236(1–3) :94–103, January 2009. [xix](#), [16](#)
- [2] Anja Drews. Membrane fouling in membrane bioreactors—Characterisation, contradictions, cause and cures. *Journal of Membrane Science*, 363(1–2) :1–28, November 2010. [xix](#), [4](#), [11](#), [15](#), [17](#), [19](#), [22](#), [23](#), [50](#), [63](#), [101](#), [132](#), [176](#), [185](#)
- [3] Wen Chen, Paul Westerhoff, Leenheer Jerry A., and Karl Booksh. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter. *Environmental Science and Technology*, 37(1–3) :5701–5710, 2003. [xix](#), [xxi](#), [xxiii](#), [xxiv](#), [26](#), [27](#), [28](#), [29](#), [83](#), [105](#), [138](#), [163](#), [195](#), [202](#)
- [4] Elfrida M. Carstea, John Bridgeman, Andy Baker, and Darren M. Reynolds. Fluorescence spectroscopy for wastewater monitoring : A review. *Water Research*, 95 :205–219, May 2016. [xix](#), [27](#), [28](#), [30](#), [31](#), [124](#), [132](#), [138](#), [160](#), [163](#), [207](#)
- [5] Stefan A. Huber, Andreas Balz, Michael Abert, and Wouter Pronk. Characterisation of aquatic humic and non-humic matter with size-exclusion chromatography – organic carbon detection – organic nitrogen detection (LC-OCD-OND). *Water Research*, 45(2) :879–885, January 2011. [xix](#), [xxiii](#), [31](#), [32](#), [33](#), [37](#), [87](#), [105](#), [132](#), [136](#), [141](#), [194](#), [201](#), [202](#)
- [6] Céline Jacquin, Geoffroy Lesage, Jacqueline Traber, Wouter Pronk, and Marc Heran. Three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence (3deem) for quick and pseudo-quantitative determination of protein- and humic-like substances in full-scale membrane bioreactor (MBR). *Water Research*, 118 :82–92, July 2017. [xxiv](#), [129](#), [160](#), [163](#), [164](#), [173](#), [194](#), [195](#), [205](#)

- [7] Udo Wiesmann, In Su Choi, and Eva-Maria Dombrowski. Historical Development of Wastewater Collection and Treatment. In *Fundamentals of Biological Wastewater Treatment*, pages 1–23. Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006. [3](#)
- [8] L. D. Schwarz. *London in the Age of Industrialisation : Entrepreneurs, Labour Force and Living Conditions, 1700-1850*. Cambridge University Press, October 1992. [3](#)
- [9] Bill Luckin. *Death and Survival in Urban Britain : Disease, Pollution and Environment, 1800-1960*. I.B.Tauris, May 2015. [3](#)
- [10] Edward Ardern and William T. Lockett. Experiments on the oxidation of sewage without the aid of filters. *Journal of the Society of Chemical Industry*, 33(10) :523–539, May 1914. [3](#)
- [11] J Haworth. Bio-aeration at Sheffield. *Proc. Assoc. Mgr Sewage Disp. Works*, pages 83–88, 1922. [3](#)
- [12] Michel Roustan. Eau : données et statistiques - ressources en eau, August 2014. [3](#)
- [13] Simon Judd. *The MBR Book : Principles and Applications of Membrane Bioreactors for Water and Wastewater Treatment*. Elsevier, November 2010. [3](#), [11](#), [189](#)
- [14] Alain Grasmick, Corinne Cabassud, Mathieu Sperandio, and Christelle Wisniewski. Bioréacteurs à membranes et traitement des eaux usées, August 2007. [4](#), [9](#), [10](#)
- [15] A. Fenu, J. Roels, T. Wambecq, K. De Gussem, C. Thoeye, G. De Gueldre, and B. Van De Steene. Energy audit of a full scale MBR system. *Desalination*, 262(1) :121–128, November 2010. [4](#), [10](#)
- [16] Fangang Meng, Shaoqing Zhang, Yoontaek Oh, Zhongbo Zhou, Hang-Sik Shin, and So-Ryong Chae. Fouling in membrane bioreactors : An updated review. *Water Research*, 114 :151–180, May 2017. [4](#), [13](#), [19](#), [35](#), [38](#), [40](#), [41](#), [43](#), [45](#), [68](#), [100](#), [101](#), [104](#), [117](#), [159](#), [160](#)
- [17] Seoktae Kang, Wontae Lee, Soryong Chae, and Hangsik Shin. Positive roles of biofilm during the operation of membrane bioreactor for water reuse. *Desalination*, 202(1) :129–134, January 2007. [4](#), [13](#), [39](#), [143](#), [150](#), [206](#)
- [18] Wenxiang Zhang, Bing Tang, and Liying Bin. Research progress in biofilm-membrane bioreactor : A critical review. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 56(24) :6900–6909, June 2017. [4](#), [13](#), [222](#)

- [19] Daniyal Jahangir, Hyun-Suk Oh, Sang-Ryoung Kim, Pyung-Kyu Park, Chung-Hak Lee, and Jung-Kee Lee. Specific location of encapsulated quorum quenching bacteria for biofouling control in an external submerged membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 411 :130–136, September 2012. [4](#)
- [20] A. Charfi, Y. Yang, J. Harmand, N. Ben Amar, M. Heran, and A. Grasmick. Soluble microbial products and suspended solids influence in membrane fouling dynamics and interest of punctual relaxation and/or backwashing. *Journal of Membrane Science*, 475 :156–166, February 2015. [4](#), [13](#), [131](#), [159](#)
- [21] Muhammad Aslam, Amine Charfi, Geoffroy Lesage, Marc Heran, and Jeonghwan Kim. Membrane bioreactors for wastewater treatment : A review of mechanical cleaning by scouring agents to control membrane fouling. *Chemical Engineering Journal*, 307 :897–913, January 2017. [4](#), [101](#), [159](#), [189](#)
- [22] Fangang Meng, So-Ryong Chae, Anja Drews, Matthias Kraume, Hang-Sik Shin, and Fenglin Yang. Recent advances in membrane bioreactors (mbrs) : Membrane fouling and membrane material. *Water Research*, 43(6) :1489–1512, April 2009. [4](#), [17](#), [26](#), [35](#), [36](#), [40](#), [100](#), [131](#), [132](#), [147](#)
- [23] Wenshan Guo, Huu-Hao Ngo, and Jianxin Li. A mini-review on membrane fouling. *Bioresource Technology*, 122 :27–34, October 2012. [4](#), [17](#), [33](#), [35](#), [40](#)
- [24] O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, and R.J. Randall. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 193(1), 265-275. 1951. [4](#), [26](#), [160](#)
- [25] Bo Frølund, Rikke Palmgren, Kristian Keiding, and Per Halkjær Nielsen. Extraction of extracellular polymers from activated sludge using a cation exchange resin. *Water Research*, 30(8) :1749–1758, August 1996. [4](#), [26](#), [79](#), [132](#), [135](#)
- [26] Michel. DuBois, K. A. Gilles, J. K. Hamilton, P. A. Rebers, and Fred. Smith. Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. *Analytical Chemistry*, 28(3) :350–356, March 1956. [4](#), [26](#), [80](#), [132](#), [135](#), [143](#), [160](#)
- [27] Katsuki Kimura, Takuro Naruse, and Yoshimasa Watanabe. Changes in characteristics of soluble microbial products in membrane bioreactors associated with different solid retention times : Relation to membrane fouling. *Water Research*, 43(4) :1033–1039, March 2009. [4](#), [47](#), [131](#), [143](#), [160](#)

- [28] Chalor Jarusutthirak, Gary Amy, and Jean-Philippe Croué. Fouling characteristics of wastewater effluent organic matter (EfOM) isolates on NF and UF membranes. *Desalination*, 145(1–3) :247–255, September 2002. [5](#), [101](#), [113](#), [153](#), [159](#)
- [29] Chinagarn Kunacheva, Yan Ni Annie Soh, Antoine P. Trzcinski, and David C. Stuckey. Soluble microbial products (SMPs) in the effluent from a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBR) under different HRTs and transient loading conditions. *Chemical Engineering Journal*, 311 :72–81, March 2017. [5](#), [22](#), [46](#), [48](#), [50](#), [159](#), [172](#), [190](#), [200](#)
- [30] CH Xing, E Tardieu, Y Quian, and XH Wen. Ultrafiltration membrane bioreactor for urban wastewater reclamation. *Journal of Membrane Science*, 177 :73–82, August 2000. [10](#)
- [31] Pierre Le-Clech, Vicki Chen, and Tony A. G. Fane. Fouling in membrane bioreactors used in wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 284(1–2) :17–53, November 2006. [10](#), [17](#), [18](#), [36](#), [41](#), [47](#), [100](#), [131](#), [159](#)
- [32] Yu-min Su, Jacek Makinia, and Krishna R. Pagilla. Estimation of autotrophic maximum specific growth rate constant—experience from the long-term operation of a laboratory-scale sequencing batch reactor system. *Water Environment Research : A Research Publication of the Water Environment Federation*, 80(4) :355–366, April 2008. [11](#), [47](#), [170](#)
- [33] Meijia Zhang, Wei Peng, Jianrong Chen, Yiming He, Linxian Ding, Aijun Wang, Hongjun Lin, Huachang Hong, Ye Zhang, and Haiying Yu. A new insight into membrane fouling mechanism in submerged membrane bioreactor : Osmotic pressure during cake layer filtration. *Water Research*, 47(8) :2777–2786, May 2013. [11](#)
- [34] B. Marrot, A. Barrios-Martinez, P. Moulin, and N. Roche. Industrial wastewater treatment in a membrane bioreactor : A review. *Environmental Progress*, 23(1) :59–68, April 2004. [11](#), [189](#)
- [35] Lawrence K. Wang and Ravinder Menon. Treatment of Industrial Effluents, Municipal Wastes, and Potable Water by Membrane Bioreactors. In Dr Lawrence K. Wang DEE, PE, Dr Jiaping Paul Chen, Dr Yung-Tse Hung DEE, PE, and Dr Nazih K. Shammam, editors, *Membrane and Desalination Technologies*, number 13 in Handbook of Environmental Engineering, pages 201–236. Humana Press, 2011. [11](#), [189](#)

- [36] Laure Defrance, Michel Y. Jaffrin, Bharat Gupta, Patrick Paullier, and Valery Geaugey. Contribution of various constituents of activated sludge to membrane bioreactor fouling. *Bioresource Technology*, 73(2) :105–112, June 2000. [11](#), [17](#)
- [37] Xing Zheng, Mathias Ernst, and Martin Jekel. Identification and quantification of major organic foulants in treated domestic wastewater affecting filterability in dead-end ultrafiltration. *Water Research*, 43(1) :238–244, January 2009. [11](#), [17](#)
- [38] Pierre Le Clech, Bruce Jefferson, In Soung Chang, and Simon J. Judd. Critical flux determination by the flux-step method in a submerged membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 227(1–2) :81–93, December 2003. [12](#), [14](#)
- [39] Morten Lykkegaard Christensen, Thomas Vistisen Bugge, Barbara Harling Hede, Marta Nierychlo, Poul Larsen, and Mads Koustrup Jørgensen. Effects of relaxation time on fouling propensity in membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*, 504 :176–184, April 2016. [12](#), [131](#), [159](#)
- [40] Zhiwei Wang, Jinxing Ma, Chuyang Y. Tang, Katsuki Kimura, Qiaoying Wang, and Xiaomeng Han. Membrane cleaning in membrane bioreactors : A review. *Journal of Membrane Science*, 468 :276–307, October 2014. [12](#), [13](#), [18](#), [174](#)
- [41] Kang Xiao, Xiaomao Wang, Xia Huang, T. David Waite, and Xianghua Wen. Combined effect of membrane and foulant hydrophobicity and surface charge on adsorptive fouling during microfiltration. *Journal of Membrane Science*, 373(1–2) :140–151, May 2011. [13](#), [116](#)
- [42] Tze Chiang Albert Ng and How Yong Ng. Characterisation of initial fouling in aerobic submerged membrane bioreactors in relation to physico-chemical characteristics under different flux conditions. *Water Research*, 44(7) :2336–2348, April 2010. [13](#)
- [43] Louise Vanysacker, Bart Boerjan, Priscilla Declerck, and Ivo F. J. Vankelecom. Biofouling ecology as a means to better understand membrane biofouling. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 98(19) :8047–8072, October 2014. [13](#)
- [44] Aicha Gasmi. *Intérêt d'un bioréacteur à membranes immergées pour le traitement de la pollution azotée dans une eau usée carencée en matière organique*. PhD thesis, Université de Montpellier, December 2012. [15](#)
- [45] Ameni Lahdhiri. *Compréhension des processus biologiques dans les bioréacteurs à membranes : Choix d'un outil simplifié de simulation et identification des critères déterminant le*

- contrôle des processus*. PhD thesis, Université de Montpellier, December 2015. [15](#), [90](#), [179](#), [212](#)
- [46] J. Lebegue, M. Heran, and A. Grasmick. MBR functioning under steady and unsteady state conditions. Impact on performances and membrane fouling dynamics. *Desalination*, 231(1–3) :209–218, October 2008. [15](#)
- [47] In-Soung Chang, Soon-Ouk Bag, and Chung-Hak Lee. Effects of membrane fouling on solute rejection during membrane filtration of activated sludge. *Process Biochemistry*, 36(8–9) :855–860, March 2001. [16](#)
- [48] S. P. Hong, T. H. Bae, T. M. Tak, S. Hong, and A. Randall. Fouling control in activated sludge submerged hollow fiber membrane bioreactors. *Desalination*, 143(3) :219–228, June 2002. [16](#)
- [49] Katsuki Kimura, Nobuhiro Yamato, Hiroshi Yamamura, and Yoshimasa Watanabe. Membrane Fouling in Pilot-Scale Membrane Bioreactors (MBRs) Treating Municipal Wastewater. *Environmental Science & Technology*, 39(16) :6293–6299, August 2005. [16](#), [26](#), [36](#)
- [50] Cholnatee Sophonsiri and Eberhard Morgenroth. Chemical composition associated with different particle size fractions in municipal, industrial, and agricultural wastewaters. *Chemosphere*, 55(5) :691–703, May 2004. [17](#)
- [51] Ebru Dulekgurgen, Serdar Doğruel, Özlem Karahan, and Derin Orhon. Size distribution of wastewater COD fractions as an index for biodegradability. *Water Research*, 40(2) :273–282, January 2006. [17](#)
- [52] Daniel Todt, Arve Heistad, and Petter D. Jenssen. Load and distribution of organic matter and nutrients in a separated household wastewater stream. *Environmental Technology*, 36(12) :1584–1593, June 2015. [17](#)
- [53] Xing Zheng, Muhammad Tariq Khan, and Jean-Philippe Croué. Contribution of effluent organic matter (EfOM) to ultrafiltration (UF) membrane fouling : Isolation, characterization, and fouling effect of EfOM fractions. *Water Research*, 65 :414–424, November 2014. [17](#), [26](#), [44](#), [45](#), [67](#), [69](#), [71](#), [102](#), [104](#), [112](#), [113](#), [116](#), [119](#), [123](#), [175](#), [205](#), [222](#)
- [54] In-Soung Chang and Su-Na Kim. Wastewater treatment using membrane filtration—effect of biosolids concentration on cake resistance. *Process Biochemistry*, 40(3–4) :1307–1314, March 2005. [17](#)

- [55] C. Psoch and S. Schiewer. Anti-fouling application of air sparging and backflushing for MBR. *Journal of Membrane Science*, 283(1–2) :273–280, October 2006. [18](#)
- [56] Sung-Soo Han, Tae-Hyun Bae, Gyung-Gug Jang, and Tae-Moon Tak. Influence of sludge retention time on membrane fouling and bioactivities in membrane bioreactor system. *Process Biochemistry*, 40(7) :2393–2400, June 2005. [18](#)
- [57] S. Rosenberger, H. Evenblij, S. te Poele, T. Wintgens, and C. Laabs. The importance of liquid phase analyses to understand fouling in membrane assisted activated sludge processes—six case studies of different European research groups. *Journal of Membrane Science*, 263(1–2) :113–126, October 2005. [18](#)
- [58] Patricia Grelier, Sandra Rosenberger, and Annie Tazi-Pain. Influence of sludge retention time on membrane bioreactor hydraulic performance. *Desalination*, 192(1) :10–17, May 2006. [18](#)
- [59] Shujuan Tang, Zhiwei Wang, Zhichao Wu, and Qi Zhou. Role of dissolved organic matters (DOM) in membrane fouling of membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Journal of Hazardous Materials*, 178(1–3) :377–384, June 2010. [18](#), [22](#), [48](#), [101](#), [161](#)
- [60] C. Wisniewski and A. Grasmick. Floc size distribution in a membrane bioreactor and consequences for membrane fouling. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects*, 138(2–3) :403–411, July 1998. [18](#)
- [61] Qiaoying Wang, Zhiwei Wang, Chaowei Zhu, Xiaojie Mei, and Zhichao Wu. Assessment of SMP fouling by foulant–membrane interaction energy analysis. *Journal of Membrane Science*, 446 :154–163, November 2013. [19](#), [24](#), [101](#)
- [62] Tahir Maqbool, Viet Ly Quang, Jinwoo Cho, and Jin Hur. Characterizing fluorescent dissolved organic matter in a membrane bioreactor via excitation–emission matrix combined with parallel factor analysis. *Bioresource Technology*, 209 :31–39, June 2016. [19](#), [24](#), [27](#), [35](#), [36](#), [40](#), [43](#), [45](#), [46](#), [101](#), [109](#), [110](#)
- [63] Wen-Ming Xie, Bing-Jie Ni, Guo-Ping Sheng, Thomas Seviour, and Han-Qing Yu. Quantification and kinetic characterization of soluble microbial products from municipal wastewater treatment plants. *Water Research*, 88 :703–710, January 2016. [19](#), [23](#), [46](#), [50](#), [132](#), [191](#)
- [64] Zhiwei Wang, Zhichao Wu, Xing Yin, and Lumei Tian. Membrane fouling in a submerged membrane bioreactor (MBR) under sub-critical flux operation : Membrane foulant

- and gel layer characterization. *Journal of Membrane Science*, 325(1) :238–244, November 2008. [19](#), [35](#), [109](#)
- [65] D. Jermann, W. Pronk, S. Meylan, and M. Boller. Interplay of different NOM fouling mechanisms during ultrafiltration for drinking water production. *Water Research*, 41(8) :1713–1722, April 2007. [19](#), [35](#), [42](#), [43](#), [71](#), [101](#), [102](#), [104](#), [115](#), [116](#), [119](#), [123](#), [205](#), [207](#)
- [66] Naomi Hudson, Andy Baker, and Darren Reynolds. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters—a review. *River Research and Applications*, 23(6) :631–649, July 2007. [20](#), [27](#), [37](#)
- [67] J. Buffle. Complexation reactions in aquatic systems. An analytical approach. January 1988. [20](#), [21](#)
- [68] Maria Marta De Souza Sierra and Marc Ewald. Caractérisation et réactivité de la matière organique fluorescente dissoute dans les milieux côtiers et marins = Characterization and reactivity of the dissolved fluorescent organic matter from coastal and marine environments, 1992. [20](#)
- [69] Huiyu Zhao. *Analyse de la matière organique et ses propriétés dans l'environnement naturel en spectroscopie de fluorescence 3D traitée par PARAFAC*. phdthesis, Université du Sud Toulon Var, February 2011. [20](#)
- [70] Jerry A. Leenheer and Jean-Philippe Croué. Peer reviewed : Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environmental Science & Technology*, 37(1) :18A–26A, 2003. [21](#)
- [71] J.I. Hedges. Polymerization of humic substances in natural environments. In *Humic substances and their role in the environment*, pages 45–58. 1988. [21](#)
- [72] Dennis A. Hansell and Craig A. Carlson. *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Academic Press, October 2014. [21](#)
- [73] Mika Sillanpää. *Natural Organic Matter in Water : Characterization and Treatment Methods*. Butterworth-Heinemann, October 2014. [21](#), [26](#)
- [74] P. M. Williams, E. R. M. Druffel, and K. L. Smith. Dietary carbon sources for deep-sea organisms as inferred from their organic radiocarbon activities. *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*, 34(2) :253–266, February 1987. [21](#)
- [75] Daniel R. Noguera, Nobuo Araki, and Bruce E. Rittmann. Soluble microbial products (SMP) in anaerobic chemostats. *Biotechnology and Bioengineering*, 44(9) :1040–1047, November 1994. [22](#), [101](#)

- [76] Kangmin Chon, Kyungpyo Lee, In-Soo Kim, and Am Jang. Performance assessment of a submerged membrane bioreactor using a novel microbial consortium. *Bioresource Technology*, 210 :2–10, June 2016. [22](#), [101](#), [132](#)
- [77] M. Ras, E. Girbal-Neuhauser, E. Paul, M. Spérandio, and D. Lefebvre. Protein extraction from activated sludge : An analytical approach. *Water Research*, 42(8) :1867–1878, April 2008. [22](#), [26](#), [35](#)
- [78] Chrysi S. Laspidou and Bruce E. Rittmann. A unified theory for extracellular polymeric substances, soluble microbial products, and active and inert biomass. *Water Research*, 36(11) :2711–2720, June 2002. [22](#), [23](#)
- [79] Yu Tian, Lin Chen, and Tianling Jiang. Characterization and modeling of the soluble microbial products in membrane bioreactor. *Separation and Purification Technology*, 76(3) :316–324, January 2011. [22](#), [23](#), [46](#), [159](#), [172](#), [200](#)
- [80] Lain-Chuen Juang, Dyi-Hwa Tseng, Yi-Min Chen, Galilee Uy Semblante, and Sheng-Jie You. The effect soluble microbial products (SMP) on the quality and fouling potential of MBR effluent. *Desalination*, 326 :96–102, October 2013. [23](#), [35](#), [49](#), [191](#)
- [81] Jianyu Sun, Kang Xiao, Yinghui Mo, Peng Liang, Yuexiao Shen, Ningwei Zhu, and Xia Huang. Seasonal characteristics of supernatant organics and its effect on membrane fouling in a full-scale membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 453 :168–174, March 2014. [23](#), [36](#), [40](#), [43](#), [44](#), [47](#), [48](#), [49](#), [93](#), [102](#), [160](#), [161](#), [169](#), [172](#), [173](#), [203](#)
- [82] Bing-Jie Ni, Raymond J. Zeng, Fang Fang, Wen-Ming Xie, Guo-Ping Sheng, and Han-Qing Yu. Fractionating soluble microbial products in the activated sludge process. *Water Research*, 44(7) :2292–2302, April 2010. [24](#)
- [83] H. K. Shon, S. Vigneswaran, and S. A. Snyder. Effluent Organic Matter (EfOM) in Wastewater : Constituents, Effects, and Treatment. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 36(4) :327–374, August 2006. [24](#)
- [84] Fangang Meng, Anja Drews, Renata Mehrez, Vera Iversen, Mathias Ernst, Fenglin Yang, Martin Jekel, and Matthias Kraume. Occurrence, Source, and Fate of Dissolved Organic Matter (DOM) in a Pilot-Scale Membrane Bioreactor. *Environmental Science & Technology*, 43(23) :8821–8826, December 2009. [24](#), [160](#)
- [85] James L. Weishaar, George R. Aiken, Brian A. Bergamaschi, Miranda S. Fram, Roger Fujii, and Kenneth Mopper. Evaluation of Specific Ultraviolet Absorbance as an In-

- indicator of the Chemical Composition and Reactivity of Dissolved Organic Carbon. *Environmental Science & Technology*, 37(20) :4702–4708, October 2003. [26](#), [56](#), [105](#)
- [86] Bin Dong and Shuangying Jiang. Characteristics and behaviors of soluble microbial products in sequencing batch membrane bioreactors at various sludge retention times. *Desalination*, 243(1–3) :240–250, July 2009. [26](#)
- [87] Kangmin Chon, Jaeweon Cho, Ho Kyong Shon, and Kyongmi Chon. Advanced characterization of organic foulants of ultrafiltration and reverse osmosis from water reclamation. *Desalination*, 301 :59–66, September 2012. [26](#)
- [88] Xing Zheng, Mathias Ernst, Peter M. Huck, and Martin Jekel. Biopolymer fouling in dead-end ultrafiltration of treated domestic wastewater. *Water Research*, 44(18) :5212–5221, October 2010. [26](#), [33](#), [101](#), [160](#), [177](#)
- [89] Yue-xiao Shen, Kang Xiao, Peng Liang, Yi-wei Ma, and Xia Huang. Improvement on the modified Lowry method against interference of divalent cations in soluble protein measurement. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(9) :4167–4178, May 2013. [26](#)
- [90] Zhiwei Wang, Zhichao Wu, and Shujuan Tang. Extracellular polymeric substances (eps) properties and their effects on membrane fouling in a submerged membrane bioreactor. *Water Research*, 43(9) :2504–2512, May 2009. [26](#)
- [91] Hiroki Minehara, Kouichi Dan, Yohito Ito, Hiroo Takabatake, and Masahiro Henmi. Quantitative evaluation of fouling resistance of PVDF/PMMA-g-PEO polymer blend membranes for membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 466 :211–219, September 2014. [26](#)
- [92] E. Filloux, W. Gernjak, H. Gallard, and J. P. Croue. Investigating the relative contribution of colloidal and soluble fractions of secondary effluent organic matter to the irreversible fouling of MF and UF hollow fibre membranes. *Separation and Purification Technology*, 170 :109–115, October 2016. [27](#), [32](#), [33](#), [39](#), [40](#), [101](#), [102](#), [174](#)
- [93] Julie A. Korak, Fernando L. Rosario-Ortiz, and R. Scott Summers. Evaluation of optical surrogates for the characterization of DOM removal by coagulation. *Environ. Sci. : Water Res. Technol.*, 1(4) :493–506, 2015. [27](#), [29](#), [30](#), [133](#), [207](#)
- [94] Emmanuelle Filloux, Hervé Gallard, and Jean-Philippe Croue. Identification of effluent organic matter fractions responsible for low-pressure membrane fouling. *Water Research*, 46(17) :5531–5540, November 2012. [27](#), [104](#)

- [95] Zhiwei Wang, Zhichao Wu, and Shujuan Tang. Characterization of dissolved organic matter in a submerged membrane bioreactor by using three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy. *Water Research*, 43(6) :1533–1540, April 2009. [27](#), [29](#)
- [96] Huarong Yu, Fangshu Qu, Lianpeng Sun, Heng Liang, Zhengshuang Han, Haiqing Chang, Senlin Shao, and Guibai Li. Relationship between soluble microbial products (SMP) and effluent organic matter (EfOM) : characterized by fluorescence excitation emission matrix coupled with parallel factor analysis. *Chemosphere*, 121 :101–109, February 2015. [27](#), [36](#), [46](#), [47](#), [82](#), [132](#), [141](#), [146](#), [147](#), [159](#), [161](#), [172](#), [205](#)
- [97] Nicola Senesi. Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. *Analytica Chimica Acta*, 232 :77–106, January 1990. [27](#)
- [98] T. M. Miano and N. Senesi. Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied to soil humic substances chemistry. *Science of The Total Environment*, 117 :41–51, May 1992. [27](#)
- [99] Paula G. Coble. Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater using excitation-emission matrix spectroscopy. *Marine Chemistry*, 51(4) :325–346, January 1996. [27](#), [29](#)
- [100] Wen-Tao Li, Shi-Yu Chen, Zi-Xiao Xu, Yan Li, Chen-Dong Shuang, and Ai-Min Li. Characterization of Dissolved Organic Matter in Municipal Wastewater Using Fluorescence PARAFAC Analysis and Chromatography Multi-Excitation/Emission Scan : A Comparative Study. *Environmental Science & Technology*, 48(5) :2603–2609, March 2014. [28](#), [52](#), [132](#)
- [101] Julie A. Korak, Aaron D. Dotson, R. Scott Summers, and Fernando L. Rosario-Ortiz. Critical analysis of commonly used fluorescence metrics to characterize dissolved organic matter. *Water Research*, 49 :327–338, February 2014. [29](#), [132](#), [207](#)
- [102] Ruixia Hao, Huiqin Ren, Jianbing Li, Zhongzhi Ma, Hongwen Wan, Xiaoying Zheng, and Shuiyuan Cheng. Use of three-dimensional excitation and emission matrix fluorescence spectroscopy for predicting the disinfection by-product formation potential of reclaimed water. *Water Research*, 46(17) :5765–5776, November 2012. [29](#)

- [103] A. Huguet, H. Roux-de Balman, and E. Parlanti. Fluorescence spectroscopy applied to the optimisation of a desalting step by electro dialysis for the characterisation of marine organic matter. *Journal of Membrane Science*, 326(1) :186–196, January 2009. [29](#)
- [104] Kang Xiao, Jian-Yu Sun, Yue-Xiao Shen, Shuai Liang, Peng Liang, Xiao-Mao Wang, and Xia Huang. Fluorescence properties of dissolved organic matter as a function of hydrophobicity and molecular weight : case studies from two membrane bioreactors and an oxidation ditch. *RSC Advances*, 6(29) :24050–24059, 2016. [29](#), [34](#), [36](#), [40](#), [43](#), [221](#)
- [105] Fei Chen. Development of Advanced Characterization Techniques for Organic and Colloidal Material of Relevance to Ultrafiltration Membranes in Drinking Water Treatment. January 2016. [30](#)
- [106] Julie Jimenez. *Caractérisation de la matière organique par spectrofluorimétrie 3D pour la modélisation de la digestion anaérobie des boues issues de stations d'épuration*. PhD thesis, Université de Montpellier, November 2012. [31](#)
- [107] Zhigang Wang, Jing Cao, and Fangang Meng. Interactions between protein-like and humic-like components in dissolved organic matter revealed by fluorescence quenching. *Water Research*, 68 :404–413, January 2015. [31](#), [102](#), [145](#), [221](#)
- [108] E. Filloux, J. Labanowski, and J. P. Croue. Understanding the fouling of UF/MF hollow fibres of biologically treated wastewaters using advanced EfOM characterization and statistical tools. *Bioresource Technology*, 118 :460–468, August 2012. [32](#), [136](#), [141](#), [167](#)
- [109] Xiaodi Yue, Yoong Keat Kelvin Koh, and How Yong Ng. Effects of dissolved organic matters (DOMs) on membrane fouling in anaerobic ceramic membrane bioreactors (AnCMBRs) treating domestic wastewater. *Water Research*, 86 :96–107, December 2015. [32](#), [33](#), [36](#), [40](#), [115](#)
- [110] Jia Shin Ho, Lee Nuang Sim, Richard D. Webster, Balakrishnan Viswanath, Hans G. L. Coster, and Anthony G. Fane. Monitoring fouling behavior of reverse osmosis membranes using electrical impedance spectroscopy : A field trial study. *Desalination*, 407 :75–84, April 2017. [32](#)
- [111] Namguk Her, Gary Amy, Diane McKnight, Jinsik Sohn, and Yeomin Yoon. Characterization of DOM as a function of MW by fluorescence EEM and HPLC-SEC using UVA, DOC, and fluorescence detection. *Water Research*, 37(17) :4295–4303, October 2003. [32](#), [33](#)

- [112] Martin Wagner, Wido Schmidt, Lutz Imhof, Anika Grübel, Camilla Jähn, Denise Georgi, and Heike Petzoldt. Characterization and quantification of humic substances 2d-Fluorescence by usage of extended size exclusion chromatography. *Water Research*, 93 :98–109, April 2016. [32](#), [132](#), [141](#)
- [113] Xiao K. Liang P. Sun J. Y. Sai S. J. Shen, Y. X. and Huang. Characterization of soluble microbial products in 10 large-scale membrane bioreactors for municipal wastewater treatment in China. *Journal of Membrane Science*, 415–416 :336–345, October 2012. [33](#), [36](#), [37](#), [38](#), [40](#), [44](#), [46](#), [49](#), [50](#), [102](#), [160](#), [190](#)
- [114] Tahir Maqbool, Jinwoo Cho, and Jin Hur. Dynamic changes of dissolved organic matter in membrane bioreactors at different organic loading rates : Evidence from spectroscopic and chromatographic methods. *Bioresource Technology*, 234 :131–139, June 2017. [33](#), [47](#), [49](#), [160](#), [161](#), [169](#), [173](#), [175](#)
- [115] Jianrong Chen, Meijia Zhang, Fengquan Li, Lei Qian, Hongjun Lin, Lining Yang, Xilin Wu, Xiaoling Zhou, Yiming He, and Bao-Qiang Liao. Membrane fouling in a membrane bioreactor : High filtration resistance of gel layer and its underlying mechanism. *Water Research*, 102 :82–89, October 2016. [33](#), [35](#), [40](#), [101](#)
- [116] NoHwa Lee, Gary Amy, Jean-Philippe Croué, and Herve Buisson. Identification and understanding of fouling in low-pressure membrane (MF/UF) filtration by natural organic matter (NOM). *Water Research*, 38(20) :4511–4523, December 2004. [33](#), [34](#)
- [117] Gary Amy. Fundamental understanding of organic matter fouling of membranes. *Desalination*, 231(1–3) :44–51, October 2008. [33](#), [34](#)
- [118] Benoit Teychene, Christelle Guigui, Corinne Cabassud, and Gary Amy. Toward a better identification of foulant species in MBR processes. *Desalination*, 231(1–3) :27–34, October 2008. [33](#), [82](#), [101](#), [109](#), [110](#)
- [119] *ABC Proteins : From Bacteria to Man*. [33](#)
- [120] B. Oudega. *Protein Secretion Pathways in Bacteria*. Springer Science & Business Media, December 2012. Google-Books-ID : q7t9CAAAQBAJ. [34](#)
- [121] Zhiwei Wang, Xiaojie Mei, Zhichao Wu, Shaofan Ye, and Dianhai Yang. Effects of biopolymer discharge from MBR mixture on sludge characteristics and membrane fouling. *Chemical Engineering Journal*, 193–194 :77–87, June 2012. [34](#)
- [122] Jianxing Wang, Kun Li, Yuansong Wei, Yutao Cheng, Dongbin Wei, and Mingyue Li. Performance and fate of organics in a pilot MBR–NF for treating antibiotic production

- wastewater with recycling NF concentrate. *Chemosphere*, 121 :92–100, February 2015. [34](#)
- [123] Severian Dumitriu. *Polysaccharides : Structural Diversity and Functional Versatility, Second Edition*. CRC Press, November 2004. Google-Books-ID : P05uBwAAQBAJ. [34](#)
- [124] Swati Misra, Varsha Sharma, and Ashok Kumar Srivastava. Bacterial Polysaccharides : An Overview. *Polysaccharides : Bioactivity and Biotechnology*, pages 81–108, September 2014. [35](#)
- [125] Xiao-mao Wang and T. David Waite. Role of Gelling Soluble and Colloidal Microbial Products in Membrane Fouling. *Environmental Science & Technology*, 43(24) :9341–9347, December 2009. [35](#)
- [126] Kang Xiao, Yue-xiao Shen, Shuai Liang, Peng Liang, Xiao-mao Wang, and Xia Huang. A systematic analysis of fouling evolution and irreversibility behaviors of MBR supernatant hydrophilic/hydrophobic fractions during microfiltration. *Journal of Membrane Science*, 467 :206–216, October 2014. [35](#), [42](#), [43](#), [44](#), [49](#), [73](#), [101](#), [102](#), [115](#), [119](#), [132](#)
- [127] Katsuki Kimura, Shin-Ichiro Nishimura, Risho Miyoshi, Asiful Hoque, Taro Miyoshi, and Yoshimasa Watanabe. Application of glyco-blotting for identification of structures of polysaccharides causing membrane fouling in a pilot-scale membrane bioreactor treating municipal wastewater. *Bioresource Technology*, 179 :180–186, March 2015. [35](#), [49](#), [101](#), [131](#)
- [128] M. E. Hernandez Rojas, R. Van Kaam, S. Schetrite, and C. Albasi. Role and variations of supernatant compounds in submerged membrane bioreactor fouling. *Desalination*, 179(1) :95–107, July 2005. [35](#)
- [129] Hyun-Chul Kim and Brian A. Dempsey. Membrane fouling due to alginate, SMP, EfOM, humic acid, and NOM. *Journal of Membrane Science*, 428 :190–197, February 2013. [36](#), [38](#)
- [130] Brian V. Merkey, Bruce E. Rittmann, and David L. Chopp. Modeling how soluble microbial products (SMP) support heterotrophic bacteria in autotroph-based biofilms. *Journal of Theoretical Biology*, 259(4) :670–683, August 2009. [36](#)
- [131] Shuang Liang, Yan Zhao, Cui Liu, and Lianfa Song. Effect of solution chemistry on the fouling potential of dissolved organic matter in membrane bioreactor systems. *Journal of Membrane Science*, 310(1–2) :503–511, March 2008. [36](#), [40](#)

- [132] Katsuki Kimura, Rie Ogyu, Taro Miyoshi, and Yoshimasa Watanabe. Transition of major components in irreversible fouling of MBRs treating municipal wastewater. *Separation and Purification Technology*, 142 :326–331, March 2015. [36](#), [40](#), [50](#), [101](#), [116](#), [148](#), [150](#), [159](#), [161](#), [174](#), [205](#), [206](#)
- [133] Y.-P. Chin, G. Aiken, and E. O’Loughlin. Molecular weight, polydispersity, and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environmental Science and Technology*, 28(11) :6, 1994. [37](#), [147](#)
- [134] N. Senesi. Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Science of The Total Environment*, 123 :63–76, 1992. [37](#)
- [135] Alessandro Piccolo. The supramolecular structure of humic substances : A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. volume 75, pages 57–134. Academic Press, 2002. [37](#), [38](#), [116](#)
- [136] M. Halim, R. Spaccini, E. Parlanti, A. Amezghal, and A. Piccolo. Differences in fluorescence properties between humic acid and its size fractions separated by preparative HPSEC. *Journal of Geochemical Exploration*, 129 :23–27, June 2013. [38](#)
- [137] A. Piccolo, S. Nardi, and G. Concheri. Micelle-like conformation of humic substances as revealed by size exclusion chromatography. *Chemosphere*, 33(4) :595–602, August 1996. [38](#), [150](#)
- [138] Leihong Zhao, Fangyuan Wang, Xuexiang Weng, Renjie Li, Xiaoling Zhou, Hongjun Lin, Haiying Yu, and Bao-Qiang Liao. Novel indicators for thermodynamic prediction of interfacial interactions related with adhesive fouling in a membrane bioreactor. *Journal of Colloid and Interface Science*, 487 :320–329, February 2017. [38](#), [102](#)
- [139] Anne K. Camper. Involvement of humic substances in regrowth. *International Journal of Food Microbiology*, 92(3) :355–364, May 2004. [38](#)
- [140] Le Jin, Say Leong Ong, and How Yong Ng. Fouling control mechanism by suspended biofilm carriers addition in submerged ceramic membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*, 427 :250–258, January 2013. [39](#), [40](#)
- [141] Luca Fortunato, Sanghyun Jeong, Yiran Wang, Ali R. Behzad, and TorOve Leiknes. Integrated approach to characterize fouling on a flat sheet membrane gravity driven submerged membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 222 :335–343, December 2016. [39](#)

- [142] M. A. H. Johir, S. Vigneswaran, J. Kandasamy, R. BenAim, and A. Grasmick. Effect of salt concentration on membrane bioreactor (MBR) performances : Detailed organic characterization. *Desalination*, 322 :13–20, August 2013. [39](#)
- [143] Rui Miao, Lei Wang, Yongtao Lv, Xudong Wang, Ling Feng, Ziwen Liu, Danxi Huang, and Yongzhe Yang. Identifying polyvinylidene fluoride ultrafiltration membrane fouling behavior of different effluent organic matter fractions using colloidal probes. *Water Research*, 55 :313–322, May 2014. [41](#), [45](#), [116](#), [118](#), [207](#)
- [144] Gerald Matar, Graciela Gonzalez-Gil, Husnul Maab, Suzana Nunes, Pierre Le-Clech, Johannes Vrouwenvelder, and Pascal E. Saikaly. Temporal changes in extracellular polymeric substances on hydrophobic and hydrophilic membrane surfaces in a submerged membrane bioreactor. *Water Research*, 95 :27–38, May 2016. [41](#)
- [145] Darli T. Myat, Matthew B. Stewart, Max Mergen, Oliver Zhao, John D. Orbell, and Stephen Gray. Experimental and computational investigations of the interactions between model organic compounds and subsequent membrane fouling. *Water Research*, 48 :108–118, January 2014. [43](#), [119](#), [150](#)
- [146] Baoxia Mi and Menachem Elimelech. Chemical and physical aspects of organic fouling of forward osmosis membranes. *Journal of Membrane Science*, 320(1) :292–302, July 2008. [43](#)
- [147] Jerry A. Leenheer. Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters. *Environmental Science & Technology*, 15(5) :578–587, May 1981. [44](#)
- [148] Benoît Pernet-coudrier, Ludiwine Clouzot, Gilles Varrault, Marie-Hélène Tusseau-vuillemin, Alain Verger, and Jean-Marie Mouchel. Dissolved organic matter from treated effluent of a major wastewater treatment plant : Characterization and influence on copper toxicity. *Chemosphere*, 73(4) :593–599, September 2008. [44](#), [68](#), [71](#), [102](#), [104](#)
- [149] Djamila Al-Halbouni, Wolfgang Dott, and Juliane Hollender. Occurrence and composition of extracellular lipids and polysaccharides in a full-scale membrane bioreactor. *Water Research*, 43(1) :97–106, January 2009. [44](#)
- [150] Cai-Yun Wan, Heleen De Wever, Ludo Diels, Chris Thoeye, Jun-Bin Liang, and Li-Nan Huang. Biodiversity and population dynamics of microorganisms in a full-scale membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Water Research*, 45(3) :1129–1138, January 2011. [45](#), [160](#)

- [151] Da-Wen Gao, Zhi-Dan Wen, Bao Li, and Hong Liang. Membrane fouling related to microbial community and extracellular polymeric substances at different temperatures. *Bioresource Technology*, 143 :172–177, September 2013. [45](#), [48](#)
- [152] Anja Drews, Jan Mante, Vera Iversen, Martin Vocks, Boris Lesjean, and Matthias Kraume. Impact of ambient conditions on SMP elimination and rejection in MBRs. *Water Research*, 41(17) :3850–3858, September 2007. [46](#), [48](#)
- [153] Duncan J. Barker and David C. Stuckey. A review of soluble microbial products (SMP) in wastewater treatment systems. *Water Research*, 33(14) :3063–3082, October 1999. [46](#), [48](#), [132](#)
- [154] Chinagarn Kunacheva and David C. Stuckey. Analytical methods for soluble microbial products (SMP) and extracellular polymers (ECP) in wastewater treatment systems : A review. *Water Research*, 61 :1–18, September 2014. [46](#), [132](#), [143](#), [190](#)
- [155] Suping Feng, Nannan Zhang, Hanchao Liu, Xiaolin Du, Yongli Liu, and Hai Lin. The effect of COD/N ratio on process performance and membrane fouling in a submerged bioreactor. *Desalination*, 285 :232–238, January 2012. [46](#), [49](#)
- [156] Yu Yang, Geoffroy Lesage, M Barret, Nicolas Bernet, Alain Grasmick, and J Hamelin. New urban wastewater treatment with autotrophic membrane bioreactor at low chemical oxygen demand/N substrate ratio. *Water science and technology : a journal of the International Association on Water Pollution Research*, 69(5) :960–5, 2014. [46](#), [64](#), [209](#)
- [157] L. Hao, S. N. Liss, and B. Q. Liao. Influence of COD :N ratio on sludge properties and their role in membrane fouling of a submerged membrane bioreactor. *Water Research*, 89 :132–141, February 2016. [46](#), [131](#)
- [158] Wen-Ming Xie, Bing-Jie Ni, Thomas Seviour, Guo-Ping Sheng, and Han-Qing Yu. Characterization of autotrophic and heterotrophic soluble microbial product (SMP) fractions from activated sludge. *Water Research*, 46(19) :6210–6217, December 2012. [47](#)
- [159] Wen-Ming Xie, Bing-Jie Ni, Thomas Seviour, and Han-Qing Yu. Evaluating the impact of operational parameters on the formation of soluble microbial products (smp) by activated sludge. *Water Research*, 47(3) :1073–1079, March 2013. [47](#), [48](#)
- [160] M. A. H. Johir, S. Vigneswaran, A. Sathasivan, J. Kandasamy, and C. Y. Chang. Effect of organic loading rate on organic matter and foulant characteristics in membrane bio-reactor. *Bioresource Technology*, 113 :154–160, June 2012. [47](#)

- [161] Djamila Al-Halbouni, Jacqueline Traber, Sven Lyko, Thomas Wintgens, Thomas Melin, Daniela Tacke, Andreas Janot, Wolfgang Dott, and Juliane Hollender. Correlation of EPS content in activated sludge at different sludge retention times with membrane fouling phenomena. *Water Research*, 42(6–7) :1475–1488, March 2008. [47](#), [48](#), [132](#)
- [162] Zhiwei Wang, Shujuan Tang, Yufeng Zhu, Zhichao Wu, Qi Zhou, and Dianhai Yang. Fluorescent dissolved organic matter variations in a submerged membrane bioreactor under different sludge retention times. *Journal of Membrane Science*, 355(1–2) :151–157, June 2010. [47](#), [50](#)
- [163] Guoqiang Liu and Jianmin Wang. Modeling effects of DO and SRT on activated sludge decay and production. *Water Research*, 80 :169–178, September 2015. [47](#)
- [164] Hang-Sik Shin and Seok-Tae Kang. Characteristics and fates of soluble microbial products in ceramic membrane bioreactor at various sludge retention times. *Water Research*, 37(1) :121–127, January 2003. [47](#)
- [165] Zhun Ma, Xianghua Wen, Fang Zhao, Yu Xia, Xia Huang, David Waite, and Jing Guan. Effect of temperature variation on membrane fouling and microbial community structure in membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 133 :462–468, April 2013. [48](#), [169](#)
- [166] P. Krzeminski, A. Iglesias-Obelleiro, G. Madebo, J. M. Garrido, J. H. J. M. van der Graaf, and J. B. van Lier. Impact of temperature on raw wastewater composition and activated sludge filterability in full-scale MBR systems for municipal sewage treatment. *Journal of Membrane Science*, 423 :348–361, December 2012. [48](#)
- [167] Faisal I. Hai, Karin Tessmer, Luong N. Nguyen, Jinguo Kang, William E. Price, and Long D. Nghiem. Removal of micropollutants by membrane bioreactor under temperature variation. *Journal of Membrane Science*, 383(1) :144–151, November 2011. [48](#)
- [168] Meng Yao, Bradley Ladewig, and Kaisong Zhang. Identification of the change of soluble microbial products on membrane fouling in membrane bioreactor (MBR). *Desalination*, 278(1–3) :126–131, September 2011. [49](#)
- [169] Yuexiao Shen, Wentao Zhao, Kang Xiao, and Xia Huang. A systematic insight into fouling propensity of soluble microbial products in membrane bioreactors based on hydrophobic interaction and size exclusion. *Journal of Membrane Science*, 346(1) :187–193, January 2010. [49](#), [73](#), [102](#), [107](#), [115](#), [131](#)
- [170] J. Cho, K. G. Song, H. Yun, K. H. Ahn, J. Y. Kim, and T. H. Chung. Quantitative analysis of biological effect on membrane fouling in submerged membrane bioreactor.

- Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 51(6-7) :9–18, 2005. [51](#), [161](#), [176](#)
- [171] B. Lesjean, S. Rosenberger, C. Laabs, M. Jekel, R. Gnirss, and G. Amy. Correlation between membrane fouling and soluble/colloidal organic substances in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Water Science and Technology*, 51(6-7) :1–8, March 2005. [51](#), [161](#), [176](#)
- [172] R. Shane Trussell, Rion P. Merlo, Slawomir W. Hermanowicz, and David Jenkins. The effect of organic loading on process performance and membrane fouling in a submerged membrane bioreactor treating municipal wastewater. *Water Research*, 40(14) :2675–2683, August 2006. [51](#), [161](#), [176](#)
- [173] Wayne Boyles. The science of chemical oxygen demand, technical information series, boolet no.9, 1997. [55](#)
- [174] Namjung Jang, Xianghao Ren, Jaeweon Cho, and In S. Kim. Steady-state modeling of bio-fouling potentials with respect to the biological kinetics in the submerged membrane bioreactor (SMBR). *Journal of Membrane Science*, 284(1) :352–360, November 2006. [57](#)
- [175] Eawag. Mix or NoMix - a closer look at urine source separation. *Eawag News* 63, 2007. [65](#)
- [176] G Ruiz, D Jeison, and R Chamy. Nitrification with high nitrite accumulation for the treatment of wastewater with high ammonia concentration. *Water Research*, 37(6) :1371–1377, March 2003. [66](#), [190](#)
- [177] V. M. Vadivelu, J. Keller, and Z. Yuan. Free ammonia and free nitrous acid inhibition on the anabolic and catabolic processes of *Nitrosomonas* and *Nitrobacter*. *Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 56(7) :89–97, 2007. [66](#), [190](#), [195](#)
- [178] D. Violleau, H. Essis-Tome, H. Habarou, J. P. Croué, and M. Pontié. Fouling studies of a polyamide nanofiltration membrane by selected natural organic matter : an analytical approach. *Desalination*, 173(3) :223–238, March 2005. [68](#), [104](#)
- [179] Ronald L. Malcolm and Patrick MacCarthy. Quantitative evaluation of XAD-8 and XAD-4 resins used in tandem for removing organic solutes from water. *Environment International*, 18(6) :597–607, 1992. [69](#), [102](#), [104](#)

- [180] R. K. Henderson, A. Baker, K. R. Murphy, A. Hambly, R. M. Stuetz, and S. J. Khan. Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems : A review. *Water Research*, 43(4) :863–881, March 2009. [82](#), [160](#)
- [181] Mathieu Muller, Julie Jimenez, Maxime Antonini, Yves Dudal, Eric Latrille, Fabien Vedrenne, Jean-Philippe Steyer, and Dominique Patureau. Combining chemical sequential extractions with 3d fluorescence spectroscopy to characterize sludge organic matter. *Waste Management (New York, N.Y.)*, 34(12) :2572–2580, December 2014. [82](#)
- [182] Antonin Azais, Julie Mendret, Sana Gassara, Eddy Petit, André Deratani, and Stephan Brosillon. Nanofiltration for wastewater reuse : Counteractive effects of fouling and matrice on the rejection of pharmaceutical active compounds. *Separation and Purification Technology*, 133 :313–327, September 2014. [82](#), [105](#)
- [183] Xiao-Song He, Bei-Dou Xi, Xiang Li, Hong-Wei Pan, Da An, Shuo-Guo Bai, Dan Li, and Dong-Yu Cui. Fluorescence excitation–emission matrix spectra coupled with parallel factor and regional integration analysis to characterize organic matter humification. *Chemosphere*, 93(9) :2208–2215, November 2013. [82](#)
- [184] Richard G Zepp, Wade M Sheldon, and Mary Ann Moran. Dissolved organic fluorophores in southeastern US coastal waters : correction method for eliminating Rayleigh and Raman scattering peaks in excitation–emission matrices. *Marine Chemistry*, 89(1–4) :15–36, October 2004. [84](#), [105](#), [163](#)
- [185] Rita K. Henderson, Nashida Subhi, Alice Antony, Stuart J. Khan, Kathleen R. Murphy, Greg L. Leslie, Vicki Chen, Richard M. Stuetz, and Pierre Le-Clech. Evaluation of effluent organic matter fouling in ultrafiltration treatment using advanced organic characterisation techniques. *Journal of Membrane Science*, 382(1–2) :50–59, October 2011. [85](#), [149](#)
- [186] Marie Collard, Benoit Teychené, and Laurent Lemée. Improved quantitative analysis of molecular constituents of wastewater sludge pellets using double-shot thermochemolysis-GCMS. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 114 :265–272, July 2015. [89](#), [103](#), [106](#), [110](#)
- [187] Daniele Di Trapani, Marco Capodici, Alida Cosenza, Gaetano Di Bella, Giorgio Mannina, Michele Torregrossa, and Gaspare Viviani. Evaluation of biomass activity and wastewater characterization in a UCT-MBR pilot plant by means of respirometric techniques. *Desalination*, 269(1–3) :190–197, March 2011. [90](#), [160](#)

- [188] Abdessemed D. Lesage G. Heran M. Benaliouche, H. Characterization of active biomass and species by means of respirometric technique from activated sludge models. *International Journal of Environmental Research*, 11 :489–500, 2017. [90](#), [91](#)
- [189] Mogens Henze, Willi Gujer, Takashi Mino, and Mark van Loosdrecht. *Activated Sludge Models ASM1, ASM2, ASM2D, ASM3*, volume 5. IWA Publishing, 01 2000. [92](#)
- [190] J. Arévalo, L. M. Ruiz, J. A. Parada-Albarracín, D. M. González-Pérez, J. Pérez, B. Moreno, and M. A. Gómez. Wastewater reuse after treatment by MBR. Microfiltration or ultrafiltration? *Desalination*, 299 :22–27, August 2012. [100](#)
- [191] Fangang Meng, Fenglin Yang, Baoqiang Shi, and Hanmin Zhang. A comprehensive study on membrane fouling in submerged membrane bioreactors operated under different aeration intensities. *Separation and Purification Technology*, 59(1) :91–100, February 2008. [101](#)
- [192] S. Rosenberger, C. Laabs, B. Lesjean, R. Gnirss, G. Amy, M. Jekel, and J. C. Schrotter. Impact of colloidal and soluble organic material on membrane performance in membrane bioreactors for municipal wastewater treatment. *Water Research*, 40(4) :710–720, February 2006. [101](#), [161](#), [176](#)
- [193] Sheng Li, Harvey Winters, Sanghyun Jeong, Abdul-Hamid Emwas, Saravanamuthu Vigneswaran, and Gary L. Amy. Marine bacterial transparent exopolymer particles (TEP) and TEP precursors : Characterization and RO fouling potential. *Desalination*, 379 :68–74, February 2016. [101](#), [136](#)
- [194] Pierre Le-Clech. Membrane bioreactors and their uses in wastewater treatments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88(6) :1253–1260, December 2010. [101](#)
- [195] G. R. Aiken, D. M. McKnight, K. A. Thorn, and E. M. Thurman. Isolation of hydrophilic organic acids from water using nonionic macroporous resins. *Organic Geochemistry*, 18(4) :567–573, July 1992. [102](#), [104](#)
- [196] Chuyang Y. Tang, T. H. Chong, and Anthony G. Fane. Colloidal interactions and fouling of NF and RO membranes : A review. *Advances in Colloid and Interface Science*, 164(1–2) :126–143, May 2011. [102](#)
- [197] Adhikara Resosudarmo, Yun Ye, Pierre Le-Clech, and Vicki Chen. Analysis of UF membrane fouling mechanisms caused by organic interactions in seawater. *Water Research*, 47(2) :911–921, February 2013. [102](#)

- [198] Wontae Lee, Seoktae Kang, and Hangsik Shin. Sludge characteristics and their contribution to microfiltration in submerged membrane bioreactors. *Journal of Membrane Science*, 216(1–2) :217–227, May 2003. [105](#)
- [199] Harold P Erickson. Size and Shape of Protein Molecules at the Nanometer Level Determined by Sedimentation, Gel Filtration, and Electron Microscopy. *Biological Procedures Online*, 11 :32–51, May 2009. [105](#), [134](#)
- [200] B. Teychene, G. Collet, and H. Gallard. Modeling of combined particles and natural organic matter fouling of ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science*, 505 :185–193, May 2016. [108](#)
- [201] E. Filloux, B. Teychene, A. Tazi-Pain, and J. P. Croue. Ultrafiltration of biologically treated domestic wastewater : How membrane properties influence performance. *Separation and Purification Technology*, 134 :178–186, September 2014. [109](#)
- [202] Michael H. B. Hayes and R.S Swift. The chemistry of soil organic colloids. *The chemistry of soil constituents*, pages 179–320, 1978. [110](#)
- [203] Michael H. B. Hayes. Solvent Systems for the Isolation of Organic Components from Soils. *Soil Science Society of America Journal*, 70(3) :986–994, May 2006. [111](#)
- [204] Shan Hong, Rupak Aryal, S. Vigneswaran, M. A. H. Johir, and J. Kandasamy. Influence of hydraulic retention time on the nature of foulant organics in a high rate membrane bioreactor. *Desalination*, 287 :116–122, February 2012. [115](#), [138](#)
- [205] Jin Guo, Feng Sheng, Jianhua Guo, Xiong Yang, Mintao Ma, and Yongzhen Peng. Characterization of the dissolved organic matter in sewage effluent of sequence batch reactor : the impact of carbon source. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 6(2) :280–287, April 2012. [118](#)
- [206] Darli T. Myat, Max Mergen, Oliver Zhao, Matthew B. Stewart, John D. Orbell, Tony Merle, Jean-Philippe Croué, and Stephen R. Gray. Membrane fouling mechanism transition in relation to feed water composition. *Journal of Membrane Science*, 471 :265–273, December 2014. [131](#), [159](#)
- [207] Chalor Jarusutthirak and Gary Amy. Understanding soluble microbial products (SMP) as a component of effluent organic matter (EfOM). *Water Research*, 41(12) :2787–2793, June 2007. [132](#), [146](#)

- [208] L. De Temmerman, T. Maere, H. Temmink, A. Zwijnenburg, and I. Nopens. The effect of fine bubble aeration intensity on membrane bioreactor sludge characteristics and fouling. *Water Research*, 76 :99–109, June 2015. [132](#), [144](#)
- [209] Theodora J. Stewart, Jacqueline Traber, Alexandra Kroll, Renata Behra, and Laura Sigg. Characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from periphyton using liquid chromatography-organic carbon detection–organic nitrogen detection (LC-OCD-OND). *Environmental Science and Pollution Research*, 20(5) :3214–3223, October 2012. [136](#)
- [210] Fu Chen, Xuejun Bi, and How Yong Ng. Effects of bio-carriers on membrane fouling mitigation in moving bed membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 499 :134–142, February 2016. [136](#)
- [211] Charlotte Goletz, Martin Wagner, Anika Grübel, Wido Schmidt, Nathalie Korf, and Peter Werner. Standardization of fluorescence excitation–emission-matrices in aquatic milieu. *Talanta*, 85(1) :650–656, July 2011. [138](#), [164](#)
- [212] Ramila H. Peiris, Cynthia Hallé, Hector Budman, Christine Moresoli, Sigrid Peldszus, Peter M. Huck, and Raymond L. Legge. Identifying fouling events in a membrane-based drinking water treatment process using principal component analysis of fluorescence excitation-emission matrices. *Water Research*, 44(1) :185–194, January 2010. [138](#)
- [213] Ian Jolliffe. Principal Component Analysis. In *Wiley StatsRef : Statistics Reference Online*. John Wiley & Sons, Ltd, 2014. [139](#), [167](#)
- [214] Stephan J. Köhler, Elin Lavonen, Alexander Keucken, Philippe Schmitt-Kopplin, Tom Spanjer, and Kenneth Persson. Upgrading coagulation with hollow-fibre nanofiltration for improved organic matter removal during surface water treatment. *Water Research*, 89 :232–240, February 2016. [141](#)
- [215] Qilin Li, Zhihua Xu, and Ingo Pinnau. Fouling of reverse osmosis membranes by biopolymers in wastewater secondary effluent : Role of membrane surface properties and initial permeate flux. *Journal of Membrane Science*, 290(1–2) :173–181, March 2007. [143](#)
- [216] Amer Sweity, Wang Ying, Mohammed S. Ali-Shtayeh, Fei Yang, Amos Bick, Gideon Oron, and Moshe Herzberg. Relation between EPS adherence, viscoelastic properties,

- and MBR operation : Biofouling study with QCM-D. *Water Research*, 45(19) :6430–6440, December 2011. [145](#)
- [217] M. M. D. Sierra, M. Giovanela, E. Parlanti, and E. J. Soriano-Sierra. Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques. *Chemosphere*, 58(6) :715–733, February 2005. [147](#)
- [218] Byeong Gyu Choi, Jinwoo Cho, Kyung Guen Song, and Sung Kyu Maeng. Correlation between effluent organic matter characteristics and membrane fouling in a membrane bioreactor using advanced organic matter characterization tools. *Desalination*, 309 :74–83, January 2013. [159](#)
- [219] M. Pradhan, S. Vigneswaran, J. Kandasamy, and R. Ben Aim. Combined effect of air and mechanical scouring of membranes for fouling reduction in submerged membrane reactor. *Desalination*, 288 :58–65, March 2012. [159](#)
- [220] Pengkang Jin, Xin Jin, Viggo A. Bjerkelund, Stein W. Østerhus, Xiaochang C. Wang, and Lei Yang. A study on the reactivity characteristics of dissolved effluent organic matter (EfOM) from municipal wastewater treatment plant during ozonation. *Water Research*, 88 :643–652, January 2016. [159](#)
- [221] Tao Jiang, Silvie Myngheer, Dirk J. W. De Pauw, Henri Spanjers, Ingmar Nopens, Maria D. Kennedy, Gary Amy, and Peter A. Vanrolleghem. Modelling the production and degradation of soluble microbial products (SMP) in membrane bioreactors (MBR). *Water Research*, 42(20) :4955–4964, December 2008. [160](#), [191](#), [200](#)
- [222] J. Lobos, C. Wisniewski, M. Heran, and A. Grasmick. Effects of starvation conditions on biomass behaviour for minimization of sludge production in membrane bioreactors. *Water Science and Technology*, 51(6-7) :35–44, March 2005. [160](#)
- [223] Ngo H.H. Nguyen, T.T. and W. Guo. Pilot scale study on a new membrane bioreactor hybrid system in municipal wastewater treatment. *Bioresource Technology*, 141 :8–12, August 2013. [160](#)
- [224] Farshid Pajoum Shariati, Marc Heran, Mohammad Hossein Sarrafzadeh, Mohammad Reza Mehrnia, Gabriele Sarzana, Charles Ghommidh, and Alain Grasmick. Biomass characterization by dielectric monitoring of viability and oxygen uptake rate measurements in a novel membrane bioreactor. *Bioresource Technology*, 140 :357–362, July 2013. [160](#), [170](#)

- [225] Henri Spanjers and Peter Vanrolleghem. Respirometry as a tool for rapid characterization of wastewater and activated sludge. *Water Science and Technology*, 31(2) :105–114, January 1995. [160](#)
- [226] Zhiwei Wang, Pan Wang, Qiaoying Wang, Zhichao Wu, Qi Zhou, and Dianhai Yang. Effective control of membrane fouling by filamentous bacteria in a submerged membrane bioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 158(3) :608–615, April 2010. [160](#)
- [227] Fangang Meng, Hanmin Zhang, Fenglin Yang, Shoutong Zhang, Yansong Li, and Xingwen Zhang. Identification of activated sludge properties affecting membrane fouling in submerged membrane bioreactors. *Separation and Purification Technology*, 51(1) :95–103, August 2006. [161](#), [176](#)
- [228] Zubair Ahmed, Jinwoo Cho, Byung-Ran Lim, Kyung-Guen Song, and Kyu-Hong Ahn. Effects of sludge retention time on membrane fouling and microbial community structure in a membrane bioreactor. *Journal of Membrane Science*, 287(2) :211–218, January 2007. [161](#), [176](#)
- [229] Ameni Lahdhiri, Aicha Gasmi, Geoffroy Lesage, Ahmed Hannachi, and Marc Heran. Calibration of ASM-SMP Model Under Specific Experimental Conditions for Membrane Bioreactor Application. *Current Environmental Engineering*, 2(1) :11–18, April 2015. [165](#), [209](#)
- [230] Ameni Lahdhiri, Geoffroy Lesage, Ahmed Hannachi, and Marc Heran. Minimum COD needs for denitrification : from biological models to experimental set-up. *Desalination and Water Treatment*, pages 326–334, January 2017. [165](#), [189](#)
- [231] François Zaviska, Patrick Drogui, Alain Grasmick, Antonin Azais, and Marc Héran. Nanofiltration membrane bioreactor for removing pharmaceutical compounds. *Journal of Membrane Science*, 429 :121–129, February 2013. [166](#), [171](#), [174](#)
- [232] G. Guglielmi, D. Chiarani, S. J. Judd, and G. Andreottola. Flux criticality and sustainability in a hollow fibre submerged membrane bioreactor for municipal wastewater treatment. *Journal of Membrane Science*, 289(1) :241–248, February 2007. [177](#)
- [233] Tove A. Larsen, Alfredo C. Alder, Rik I. L. Eggen, Max Maurer, and Judit Lienert. Source Separation : Will We See a Paradigm Shift in Wastewater Handling? *Environmental Science & Technology*, 43(16) :6121–6125, August 2009. [185](#)

- [234] H. Kjerstadius, A. Bernstad Saraiva, J. Spångberg, and Å. Davidsson. Carbon footprint of urban source separation for nutrient recovery. *Journal of Environmental Management*, 197 :250–257, July 2017. [185](#), [209](#)
- [235] J. R. McConville, E. Kvarnström, H. Jönsson, E. Kärrman, and M. Johansson. Source separation : Challenges & opportunities for transition in the swedish wastewater sector. *Resources, Conservation and Recycling*, 120 :144–156, May 2017. [186](#), [209](#)
- [236] Gujer W. Larsen, T. Separate management of anthropogenic nutrient solutions (human urine). *Water Sci. Technol.*, 34 :87—94, 1996. [188](#)
- [237] Daniel J. Conley, Hans W. Paerl, Robert W. Howarth, Donald F. Boesch, Sybil P. Seitzinger, Karl E. Havens, Christiane Lancelot, and Gene E. Likens. Ecology. Controlling eutrophication : nitrogen and phosphorus. *Science (New York, N.Y.)*, 323(5917) :1014–1015, February 2009. [188](#)
- [238] A. B. Bisinella de Faria, M. Spérandio, A. Ahmadi, and L. Tiruta-Barna. Evaluation of new alternatives in wastewater treatment plants based on dynamic modelling and life cycle assessment (DM-LCA). *Water Research*, 84 :99–111, November 2015. [188](#)
- [239] K. M. Udert and M. Wächter. Complete nutrient recovery from source-separated urine by nitrification and distillation. *Water Research*, 46(2) :453–464, February 2012. [188](#), [190](#), [193](#), [196](#), [197](#)
- [240] Rosanne C. Wielemaker, Jan Weijma, and Grietje Zeeman. Harvest to harvest : Recovering nutrients with New Sanitation systems for reuse in Urban Agriculture. *Resources, Conservation and Recycling*, November 2016. [188](#)
- [241] Wouter Pronk, Helena Palmquist, Martin Biebow, and Markus Boller. Nanofiltration for the separation of pharmaceuticals from nutrients in source-separated urine. *Water Research*, 40(7) :1405, 2006. [188](#)
- [242] R. D. Davis and J. E. Hall. Production, treatment and disposal of wastewater sludge in Europe from a UK perspective. *European Water Pollution Control*, 2(7) :9–17, 1997. [189](#)
- [243] Qilin Wang, Wei Wei, Yanyan Gong, Qiming Yu, Qin Li, Jing Sun, and Zhiguo Yuan. Technologies for reducing sludge production in wastewater treatment plants : State of the art. *The Science of the Total Environment*, 587-588 :510–521, June 2017. [189](#)
- [244] Y. Wei, Houten R. T. Van, A. R. Borger, D. H. Eikelboom, and Y. Fan. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Research*, 37(18) :4453–4467, 2003. [189](#)

- [245] S. Rosenberger, U. Krüger, R. Witzig, W. Manz, U. Szewzyk, and M. Kraume. Performance of a bioreactor with submerged membranes for aerobic treatment of municipal waste water. *Water Research*, 36(2) :413–420, January 2002. [189](#)
- [246] K. M. Udert, T. A. Larsen, and W. Gujer. Fate of major compounds in source-separated urine. *Water Science and Technology : A Journal of the International Association on Water Pollution Research*, 54(11-12) :413–420, 2006. [189](#)
- [247] Sheng-Peng Sun, Carles Pellicer i Nàcher, Brian Merkey, Qi Zhou, Si-Qing Xia, Dian-Hai Yang, Jian-Hui Sun, and Barth F. Smets. Effective Biological Nitrogen Removal Treatment Processes for Domestic Wastewaters with Low C/N Ratios : A Review. *Environmental Engineering Science*, 27(2) :111–126, January 2010. [189](#)
- [248] Qingjuan Meng, Fenglin Yang, Lifen Liu, and Fangang Meng. Effects of COD/N ratio and DO concentration on simultaneous nitrification and denitrification in an airlift internal circulation membrane bioreactor. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 20(8) :933–939, 2008. [190](#), [197](#)
- [249] Willi Gujer. Nitrification and me - a subjective review. *Water Research*, 44(1) :1–19, January 2010. [190](#)
- [250] Moomen Soliman and Ahmed Eldyasti. Development of partial nitrification as a first step of nitrite shunt process in a Sequential Batch Reactor (SBR) using Ammonium Oxidizing Bacteria (AOB) controlled by mixing regime. *Bioresour. Technol.*, 221 :85–95, December 2016. [190](#), [196](#)
- [251] Ilyas S. Zohaib-Ur-Rehman Khan, S.J. Impact of nitrogen loading rates on treatment performance of domestic wastewater and fouling propensity in submerged membrane bioreactor (mbr). *Bioresour. Technol.*, 141 :46–49, 2013. [190](#), [196](#), [197](#)
- [252] Blanca M. Gonzalez-Silva, Kjell Rune Jonassen, Ingrid Bakke, Kjetill Østgaard, and Olav Vadstein. Nitrification at different salinities : Biofilm community composition and physiological plasticity. *Water Research*, 95 :48–58, May 2016. [190](#), [195](#)
- [253] Kai M. Udert, Tove A. Larsen, and Willi Gujer. Estimating the precipitation potential in urine-collecting systems. *Water Research*, 37(11) :2667–2677, June 2003. [198](#)
- [254] Hassan Rahmoune, Paul W. Thompson, Joanna M. Ward, Chari D. Smith, Guizhu Hong, and John Brown. Glucose Transporters in Human Renal Proximal Tubular Cells Isolated From the Urine of Patients With Non-Insulin-Dependent Diabetes. *Diabetes*, 54(12) :3427–3434, December 2005. [200](#)

- [255] A. Chomiak, J. Traber, E. Morgenroth, and N. Derlon. Biofilm increases permeate quality by organic carbon degradation in low pressure ultrafiltration. *Water Research*, 85 :512–520, November 2015. [205](#), [206](#)
- [256] Petrovic M. Radjenovic, J. and D. Barcelo. Fate and distribution of pharmaceuticals in wastewater and sewage sludge of the conventional activated sludge (cas) and advanced membrane bioreactor (mbr) treatment. *Water research*, 43(3) :831–841, 2012. [209](#)
- [257] Julien Le Roux, Maolida Nihemaiti, and Jean-Philippe Croué. The role of aromatic precursors in the formation of haloacetamides by chloramination of dissolved organic matter. *Water Research*, 88 :371–379, January 2016. [222](#)
- [258] Alexandros Papageorgiou, Stylianos K. Stylianos, Pavlos Kaffes, Anastasios I. Zouboulis, and Dimitra Voutsas. Effects of ozonation pretreatment on natural organic matter and wastewater derived organic matter – Possible implications on the formation of ozonation by-products. *Chemosphere*, 170 :33–40, March 2017. [222](#)
- [259] Tusnelda E. Doll and Fritz H. Frimmel. Photocatalytic degradation of carbamazepine, clofibric acid and iomeprol with P25 and Hombikat UV100 in the presence of natural organic matter (NOM) and other organic water constituents. *Water Research*, 39(2) :403–411, January 2005. [222](#)
- [260] Jinfeng Lu, Tao Zhang, Jun Ma, and Zhonglin Chen. Evaluation of disinfection by-products formation during chlorination and chloramination of dissolved natural organic matter fractions isolated from a filtered river water. *Journal of Hazardous Materials*, 162(1) :140–145, February 2009. [222](#)
- [261] Antonius Armanious, Meret Aeppli, Ronald Jacak, Dominik Refardt, Thérèse Sigstam, Tamar Kohn, and Michael Sander. Viruses at Solid–Water Interfaces : A Systematic Assessment of Interactions Driving Adsorption. *Environmental Science & Technology*, 50(2) :732–743, January 2016. [222](#)

Chapitre VIII

Annexes

Annexe A

Détail des calculs des concentrations en $N-NO_3^-$, $N-NO_2^-$ et $P-PO_4^{2-}$, à partir des concentrations déterminées par chromatographie ionique

$$N - NO_3^- = \frac{M(N)}{M(NO_3^-)} \times NO_3^- = \frac{14}{62} \times NO_3^- = 0,23 \times NO_3^- \quad (1)$$

Avec :

$N - NO_3^-$ = Concentration en azote lié aux ions NO_3^- (mgN/L)

$M(N)$ = masse molaire de l'azote (g/mol)

$M(NO_3^-)$ = Masse molaire de NO_3^- (g/mol)

NO_3^- = Concentration en NO_3^- mesurée par chromatographie ionique (mg/L)

$$N - NO_2^- = \frac{M(N)}{M(NO_2^-)} \times NO_2^- = \frac{14}{46} \times NO_2^- = 0,30 \times NO_2^- \quad (2)$$

Avec :

$N - NO_2^-$ = Concentration en azote lié aux ions NO_2^- (mgN/L)

$M(N)$ = masse molaire de l'azote (g/mol)

$M(NO_2^-)$ = Masse molaire de NO_2^- (g/mol)

NO_2^- = Concentration en NO_2^- mesurée par chromatographie ionique (mg/L)

$$P - PO_4^{2-} = \frac{M(P)}{M(PO_4^{2-})} \times PO_4^{2-} = \frac{31}{95} \times PO_4^{2-} = 0,33 \times PO_4^{2-} \quad (3)$$

Avec :

$P - PO_4^{2-}$ = Concentration en azote lié aux ions PO_4^{2-} (mgN/L)

$M(P)$ = masse molaire du phosphore (g/mol)

$M(PO_4^{2-})$ = Masse molaire de PO_4^{2-} (g/mol)

PO_4^{2-} = Concentration en PO_4^{2-} mesurée par chromatographie ionique (mg/L)

Annexe B

Résultats complémentaires des analyses par THC-GC/MS

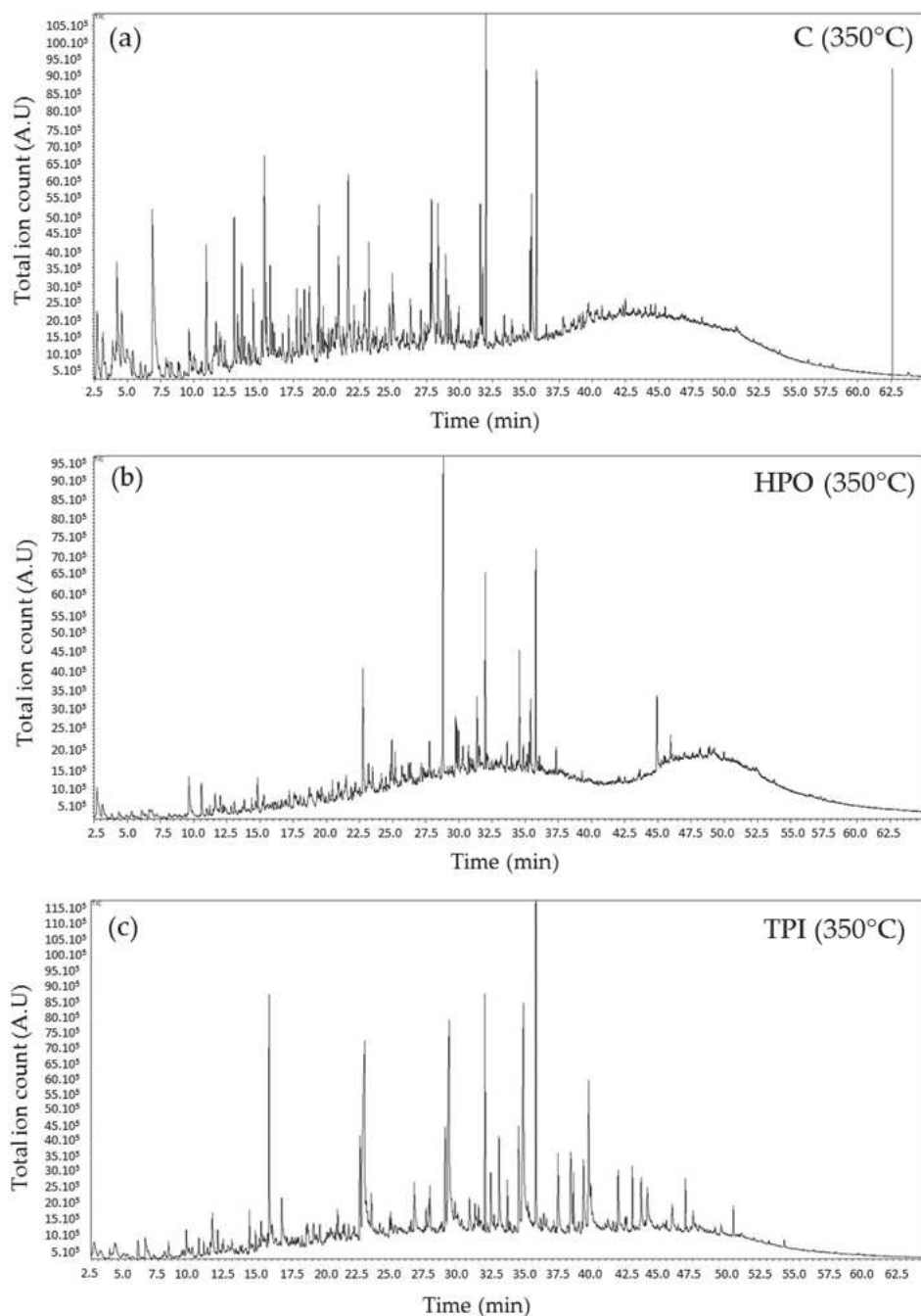


Figure B.1 – Thermochemolysis-GCMS pyrograms made from a) C, b) HPO and c) TPI powder at 350°C

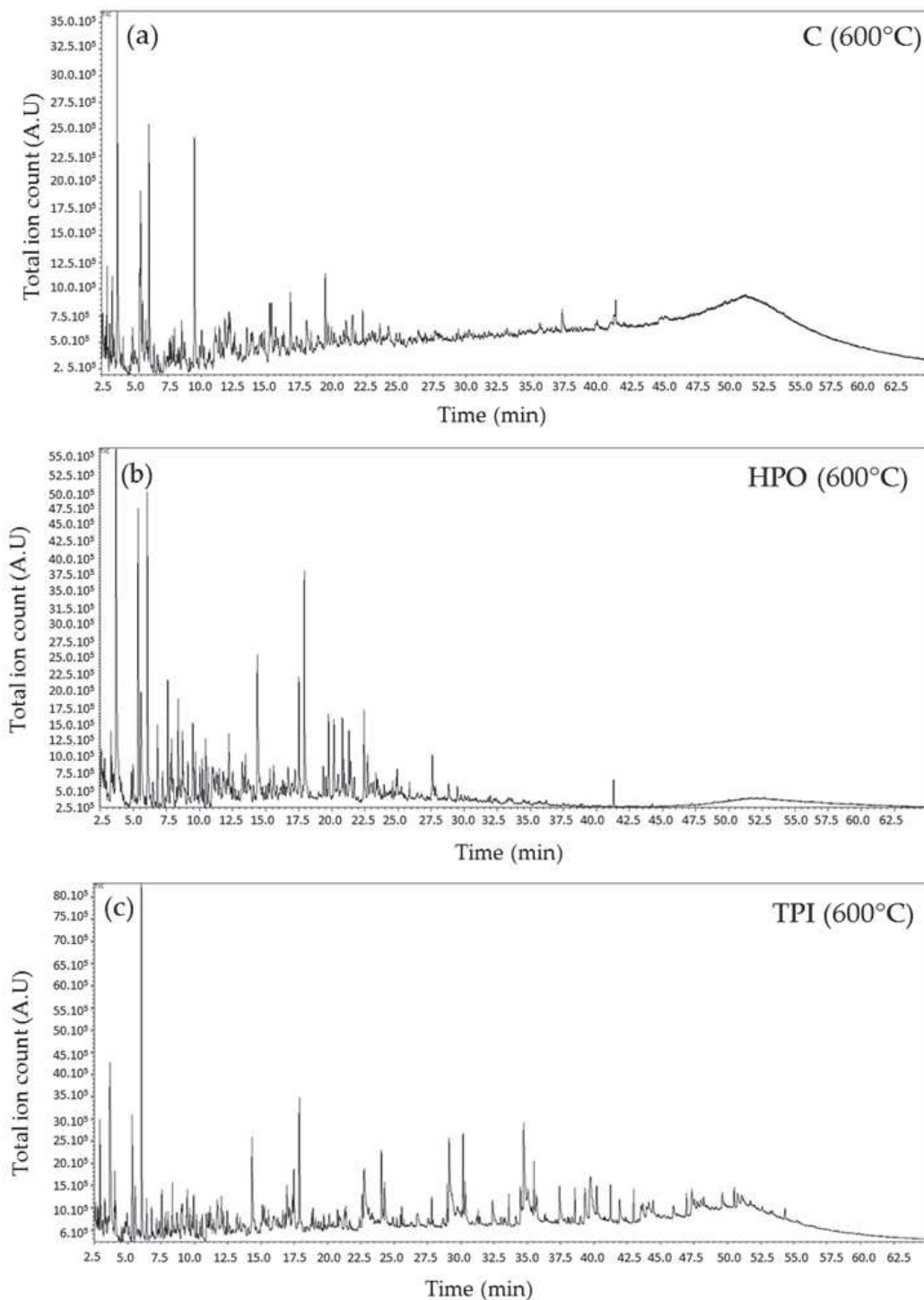


Figure B.2 – Thermochemolysis-GCMS pyrograms made from a) C, b) HPO and c) TPI powder at 600 °C

Table B.1 – Relative percentages of the different compounds identified in the 3 samples at 350°C. A : Aliphatic, N : Nitrogen, B : Aromatic, F : Furanic, P : Phosphorous

Identified compounds	Class	C	HPO	TPI
Butanoic acid,methyl- , methyl ester	A	4,6	-	-
Pentanol	A	5,9	-	-
Glycine, N,N-dimethyl-, methyl ester	N	10,2	-	-
Acetamide, N-methyl-	N	7,8	-	-
Phosphoric acid, trimethyl ester	P	14,5	-	-
Pentanoic acid, 4-oxo-, methyl ester	A	-	-	2,7
Butanedioic acid, dimethyl ester	A	1,5	16,8	7,1
Cyclopentenone, ethyl-hydroxy-	A	2,1	-	-
Pyrrolidinedione, methyl-	N	-	-	7,2
Dimethylbenzene	B	-	1,4	-
Benzene, dimethoxy-	B	5,2	-	-
Methyl isopropylcarbamate	N	1,5	-	-
2(1H)Pyrimidinone,4-(dimethylamino)-1-methyl-	N	-	-	3,7
2-Hydroxyaminoheptanoic acid, methyl ester	N	2	-	-
3(2H)-Furanone, 4-methoxy-2,5-dimethyl-	F	4,8	-	-
Hexanedioic acid, dimethyl ester	A	-	-	18,6
Heptenal, propyl-	A	0,5	-	-
2-Isopropylidene-5-methylhex-4-enal	A	0,4	-	-
Caprolactam	N	-	-	7,4
Trimethoxybenzene	B	2,8	-	-
Decanoic acid, methyl ester	A	0,7	-	-
Dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinone	N	2,3	-	-
2-Pyrrolidone-5-carboxylic acid, N-methyl, methyl ester	N	5,8	-	-
Tetramethoxybenzene	B	0,2	-	-
Dimethyl phthalate	B	-	3,6	-
2,4(1H,3H)-Pyrimidinedione, 1,3,5-trimethyl-	N	5,4	-	-
Benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester	B	-	24,9	-
Dodecanoic acid, methyl ester	A	1,7	-	-
Benzoic acid, dimethoxy-, methyl ester	B	1,2	4,9	-
Tetradecanoic acid, methyl ester	A	1,2	-	-
9H-Purin-6-amine, N,N,9-trimethyl-	N	4,2	-	-
Benzoic acid, trimethoxy-, methyl ester	B	0,9	2,7	-
Tetradecanoic acid, Methyl -, methyl ester	A	1,4	-	-
Methyl butenyl phatlate	B	-	8,4	-
Hexadecenoic acid, methyl ester	A	1,1	-	-
Hexadecanoic acid, methyl ester	A	5,3	16,7	23,1
Octadecenoic acid, methyl ester	A	1,1	1,9	-
Octadecanoic acid, methyl ester	A	3,8	17,9	30,2
Nonadecenoic acid methyl ester	A	-	0,8	-

Table B.2 – Relative percentages of the different compounds identified in the 3 samples at 600 °C.
A : Aliphatic, N : Nitrogen, B : Aromatic, F : Furanic, P : Phosphorous

Identified compounds	Class	C	HPO	TPI
Furan dimethyl	F	3,2	-	-
Urea, N,N'-dimethyl-	N	-	-	5,1
1H-Pyrrole, methyl-	N	4,9	-	-
Toluene	B	32,3	25	22
Cyclopentanone	A	-	-	4,4
1H-Pyrrole, dimethyl-	N	3	-	-
Ethylbenzene	B	-	12	9,8
1H-Pyrrole, dimethyl-	N	7,9	-	-
Xylene	B	6,3	5,7	6,1
Styrene	B	11,6	8,1	16,3
Cyclopentenone, methyl-	A	-	-	2,7
Benzene, methylethyl-	B	-	2,6	1,7
Hexadiene, dimethyl-	A	-	-	0,8
Benzene, propyl-	B	-	4,8	3,1
Benzene, trimethyl-	B	-	3,3	1,3
Benzene, ethyl-methyl-	B	-	-	1,8
1H-Pyrrole, trimethyl-	N	2,1	-	-
Methylstyrene	B	-	1,7	1,6
1H-Pyrrole, trimethyl-	N	2,8	-	-
Benzene, methoxy-, methyl-	B	11,6	1,2	1,2
Benzene, propenyl-	B	-	1,3	1,1
Cyclopentenone, dimethyl-	A	-	1,6	2,2
Indene	B	-	1,1	1,1
Hexahydronaphthalene	B	-	1,2	0,6
Cyclopentenone, trimethyl-	A	-	0,7	0,6
1H-Pyrrole, tetramethyl-	N	1,7	-	-
Neodihydrocarveol	A	0,7	-	-
Cyclohexanol, methyl-(methylethylidene)-	A	2,5	0,6	-
Naphthalene	B	-	8,1	8,7
1H-Indole, methyl-	N	4,5	-	-
Naphthalene, methyl-	B	-	9,2	6,1
1H-Indole, dimethyl-	N	5,1	-	-
Biphenyl	B	-	-	3
Naphthalene, ethyl-	B	-	2,6	-
Naphthalene, 2,3-dimethyl-	B	-	3,6	0,8
Biphenyl, methyl-	B	-	3,1	-
Biphenyl, dimethyl-	B	-	0,6	-

Annexe C

Script RStudio pour réaliser une Analyse par Composantes Principales (PCA) sans variables qualitatives supplémentaires

```
# ' Chargement du module FactoMineR et des packages supplémentaires
```

```
library(FactoMineR)
```

```
# ' Importation des données Excel enregistrées en .csv
```

```
data<-read.csv(file.choose(),header=TRUE, sep=" ;")
```

```
# ' La première ligne est attribuée aux noms des échantillons
```

```
data.with.rownames<-data.frame(data[,-1], row.names=data[,1])
```

```
# ' Calcul de l'ACP
```

```
res<-PCA(data.with.rownames)
```

```
# ' Détails de l'ACP
```

```
summary(res)
```

Détails des paramètres physico-chimiques et biologiques de la station d'épuration de la Grande-Motte

Table C.1 – Wastewater samples characteristics with BS-MBR1 and E-MBR1 corresponding to the bulk supernatant and permeate samples from MBR1 taken between May and November 2015

Samples/Mean values	pH	T (°C)	TOC (mgC/L)	SUVA ₂₅₄ (L/mg/m)	MLSS (g/L)	VSS (g/L)
BS-MBR1	7.16 ± 0.13	26.6 ± 5.5	11.54 ± 0.94	2.04 ± 0.33	10.5 ± 1.8	8.5 ± 2.0
E-MBR1	7.42 ± 0.13	25.9 ± 4.4	7.40 ± 0.82	2.13 ± 0.49	0.0	0.0

Résultats complémentaires de l'ACP du Chapitre IV

Table C.1 – Variance descriptions for the different axis (Dim)

Eigenvalues									
	Dim.1	Dim.2	Dim.3	Dim.4	Dim.5	Dim.6	Dim.7	Dim.8	Dim.9
Variance	4.628	1.616	1.1	0.706	0.474	0.253	0.157	0.047	0.017
% of Variance	51.424	17.96	12.225	7.85	5.272	2.81	1.746	0.52	0.194
Cumulative % of Variance	51.424	69.384	81.608	89.458	94.73	97.54	99.286	99.806	100

Table C.2 – PCA Individuals description where Dim, ctr and cos² correspond to the individuals coordinates, contribution in percentage and cos² of the angle between the individuals vector and the axis, respectively

Individus										
	Dist	Dim.1	ctr	cos ²	Dim.2	ctr	cos ²	Dim.3	ctr	cos ²
BS-MBR1 05-21-15	3.390	2.073	5.803	0.374	0.034	0.004	0.0001	-2.462	34.444	0.528
BS-MBR1 06-16-15	1.951	1.756	4.162	0.810	-0.123	0.059	0.004	0.542	1.671	0.077
BS-MBR1 06-23-15	1.457	1.3044	2.298	0.802	-0.354	0.486	0.059	-0.018	0.002	0.0001
BS-MBR1 06-30-15	2.791	2.386	7.687	0.731	0.898	3.120	0.104	-0.286	0.465	0.011
BS-MBR1 07-08-15	5.401	5.179	36.228	0.920	0.198	0.152	0.001	1.138	7.352	0.044
BS-MBR1 09-07-15	2.649	1.541	3.208	0.339	-1.090	4.597	0.170	1.413	11.348	0.285
BS-MBR1 10-07-15	3.279	-0.866	1.013	0.070	2.298	20.414	0.491	0.152	0.131	0.002
BS-MBR1 11-03-15	1.909	-1.412	2.694	0.547	0.877	2.975	0.211	-0.641	2.336	0.113
E-MBR1 05-21-15	1.582	-0.657	0.583	0.173	0.211	0.173	0.018	-1.327	10.007	0.704
E-MBR1 06-16-15	3.499	-0.550	0.408	0.025	-2.575	25.643	0.541	0.470	1.253	0.018
E-MBR1 06-23-15	1.964	-1.717	3.980	0.764	-0.291	0.328	0.022	-0.506	1.457	0.066
E-MBR1 06-30-15	1.666	-0.934	1.178	0.314	-0.301	0.351	0.033	-1.025	5.969	0.379
E-MBR1 07-08-15	1.991	0.0977	0.013	0.002	0.005	0.00008	0.000005	0.355	0.715	0.032
E-MBR1 09-07-15	4.093	-3.195	13.782	0.609	-1.820	12.808	0.198	0.990	5.570	0.059
E-MBR1 10-07-15	2.735	-2.372	7.601	0.753	-0.626	1.514	0.052	-0.473	1.271	0.030
E-MBR1 11-03-15	4.317	-2.633	9.364	0.372	2.661	27.378	0.380	1.679	16.010	0.1512

Table C.3 – PCA Variables description where Dim, ctr and \cos^2 correspond to the individuals coordinates, contribution in percentage and \cos^2 of the angle between the individuals vector and the axis, respectively

	Variables								
	Dim.1	ctr	\cos^2	Dim.2	ctr	\cos^2	Dim.3	ctr	\cos^2
BP _{OCD}	0.834	15.04	0.696	0.151	1.416	0.023	0.271	6.68	0.073
HS+BB _{OCD}	0.966	20.161	0.933	0.039	0.096	0.002	-0.158	2.281	0.025
LMW _{OCD}	0.486	5.100	0.236	-0.575	20.425	0.33	0.204	3.777	0.042
Prot1+2-like _{3DEEM}	0.419	3.791	0.175	0.583	21.018	0.34	0.584	31.048	0.342
SMP-like _{3DEEM}	0.86	15.967	0.739	0.212	2.777	0.045	0.062	0.354	0.004
FA-like _{3DEEM}	0.876	16.566	0.767	0.132	1.085	0.018	-0.287	7.489	0.082
HA-like _{3DEEM}	0.823	14.624	0.677	0.154	1.469	0.024	-0.508	23.49	0.258
PN _{Lowry}	-0.336	2.440	0.113	0.697	30.015	0.485	0.191	3.326	0.037
PS _{Dubois}	0.540	6.310	0.292	-0.592	21.699	0.351	0.487	21.555	0.237

Table C.4 – PCA correlation coefficient and p-value between Dim.1 and variables

Dim.1		
	correlation	p-value
HS+BB _{OCD}	0.966	$1.3 \cdot 10^{-09}$
FA-like _{3DEEM}	0.876	$8.8 \cdot 10^{-06}$
SMP-like _{3DEEM}	0.860	$2.0 \cdot 10^{-05}$
BP _{OCD}	0.834	$5.7 \cdot 10^{-05}$
HA-like _{3DEEM}	0.823	$9.1 \cdot 10^{-05}$
PS _{Dubois}	0.540	$3.1 \cdot 10^{-02}$

Table C.5 – PCA correlation coefficient and p-value between Dim.2 and variables

Dim.2		
	correlation	p-value
PN _{Lowry}	0.697	$2.7 \cdot 10^{-03}$
Prot1+2-like _{3DEEM}	0.588	$1.8 \cdot 10^{-02}$
LMW _{OCD}	-0.575	$2.0 \cdot 10^{-02}$
PS _{Dubois}	-0.592	$1.6 \cdot 10^{-02}$

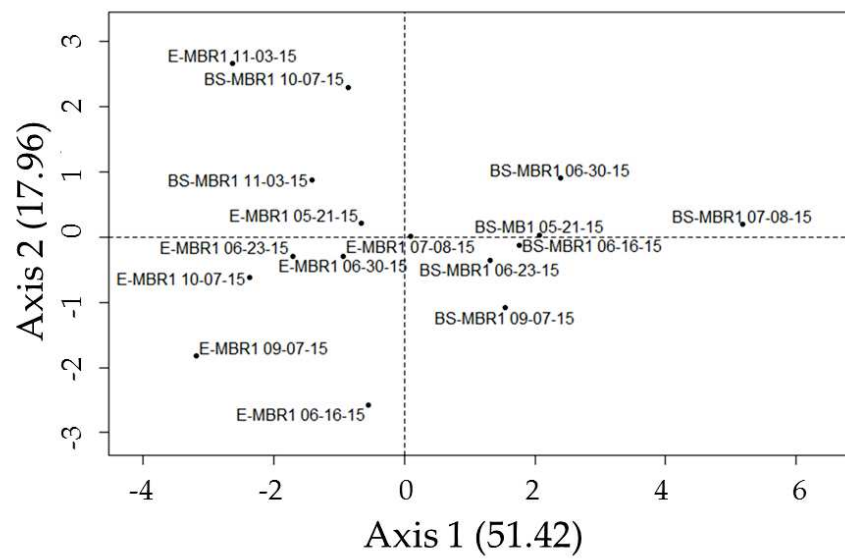


Figure C.1 – PCA scatter plot for individuals

Annexe D

Résultats complémentaires Chapitre V

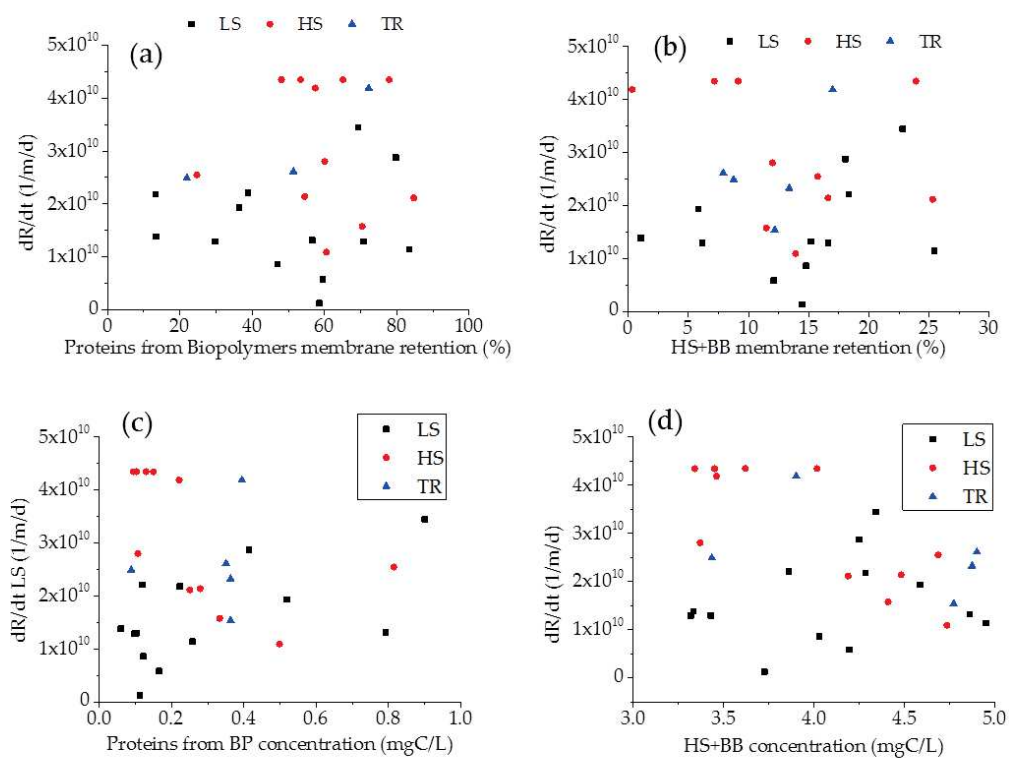


Figure D.1 – Attempts to find correlations between membrane indicators and DOM indicators

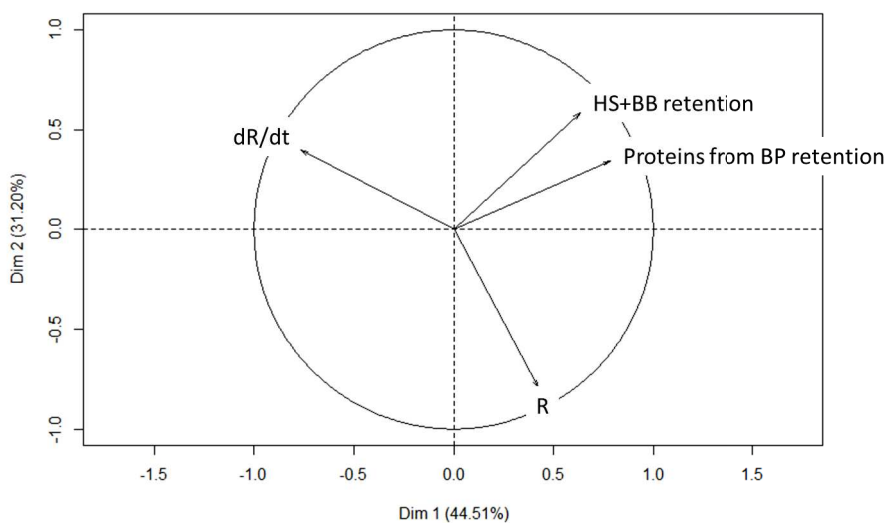


Figure D.2 – PCA performed on resistances (R), membrane fouling rate (dR/dt), Proteins from BP membrane retention and HS+BB membrane retention

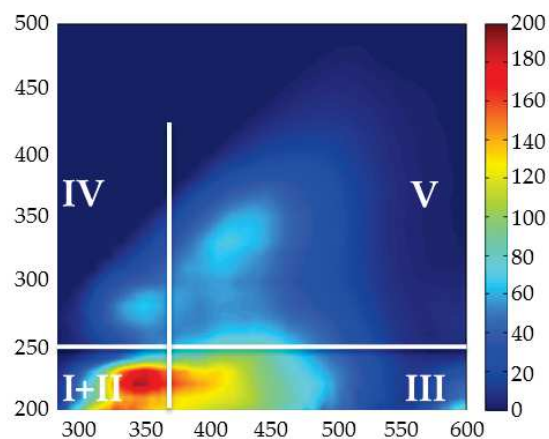


Figure D.3 – Spectre 3DEEM de l'intrant de la STEP de La Grande-Motte

Annexe E

Résultats complémentaires Chapitre VI

Table E.1 – Complete urine composition

Parameter	Average value	Standard deviation
pH	7.9	± 0.6
Conductivity (mS/cm)	17.4	± 5.0
N-NO ₂ ⁻ (mgN/L)	0.0	± 0.3
N-NO ₃ ⁻ (mgN/L)	1.1	± 3.7
Total N (mg/L)	6682	± 1488
COD (mgO ₂ /L)	7003	± 2062
COD/TN ratio	1.0	± 0.3
TOC (mgC/L)	5160	± 1130
IC (mgC/L)	600	± 550
SO ₄ ²⁻ (mg/L)	907	± 190
PO ₄ ³⁻ (mg/L)	937	± 192
Cl ⁻ (mg/L)	4380	± 481
Na ⁺ (mg/L)	2382	± 244
K ⁺ (mg/L)	2377	± 374
Ca ²⁺ (mg/L)	155	± 36
Mg ²⁺ (mg/L)	25	± 24

Table E.2 – Complete values of pH, conductivity, COD and TN concentrations in the feed (urine) during the 120 days of operation

Day	pH	Conductivity (mS/cm)	COD (mgO ₂ /L)	TN (mgN/L)	COD/TN
1	7.85	17.09	8030	7006	1.15
3	8.67	13.46	8810	6100	1.44
4	8.25	21.5	10100	6100	1.66
5	8.19	22.8	10600	8900	1.19
6	8.53	23.8	11600	9300	1.25
7	7.17	17.01	7500	7200	1.04
10	7.66	15.49	6900	6300	1.10
11	7.77	16.2	6500	6400	1.02
12	7.88	16.65	6300	6300	1.00
13	7.98	15.93	7600	7200	1.06
14	7.72	18.4	6900	6100	1.13
17	8.19	17.9	7400	6500	1.14
18	8.21	19.56	6300	5900	1.07
19	8.31	18.75	6900	6500	1.06
20	8.36	18.96	7200	6100	1.18
21	8.43	18.84	6900	6700	1.03
24	7.71	17.2	4600	6500	0.71
25	7.78	14.96	6190	6100	1.01
26	7.87	15.74	7280	5900	1.23
27	7.97	17.07	6260	6700	0.93
28	8.04	17.52	7380	6500	1.14
31	7.79	19.69	11400	6500	1.75
32	7.95	18.36	8300	6100	1.36
33	8.0	17.6	11300	6500	1.74
34	6.49	12.11	4900	6100	0.80
35	6.57	12.5	5800	5700	1.02
38	7.02	13.27	6150	5900	1.04
39	7.09	12.66	6320	6050	1.04
40	7.22	15.03	6500	6000	1.08
41	7.19	17.26	6690	7700	0.87
42	7.36	17.2	7060	8050	0.88
45	7.505	17.38	6120	6100	1.00
46	7.61	17.25	6290	6900	0.91
47	7.69	17.65	6420	7700	0.83
48	7.75	17.77	6210	5000	1.24
49	7.85	17.74	6660	7100	0.94
52	8.04	10.8	6370	6500	0.98
53	7.81	17.88	5110	6300	0.81
55	7.91	9.66	5960	4700	1.27
56	7.97	9.96	6170	5900	1.05
59	8.24	10.17	5760	5700	1.01
60	8.19	10.6	5500	6100	0.90
61	8.12	10.05	5320	6100	0.87
62	8.14	17.72	6260	5200	1.20
63	8.25	17.64	6690	5100	1.31
66	8.58	16.84	5430	4200	1.29
67	8.69	18.32	6000	6100	0.98
68	8.18	18.42	6010	7200	0.83
69	8.05	16.07	6150	6143	1.00
70	8.14	16.47	5980	3100	1.93
73	8.46	17.19	5810	4300	1.35
74	8.6	19.53	5700	5000	1.14
75	8.72	19.85	4910	4300	1.14
76	8.72	20.3	5400	4000	1.35
77	8.89	20.9	-	6800	-
80	9.3	38.8	5030	7600	0.66
81	9.32	40.8	5460	7300	0.75
82	6.53	16.7	4650	8000	0.58
83	6.56	12.82	5510	8100	0.68
86	6.77	12.46	5240	7600	0.69
87	6.85	13.17	4950	8300	0.60
88	6.94	13.28	2080	7800	0.27
89	6.93	19.36	10100	8300	1.22
90	7.04	17.16	4540	9400	0.48
96	7.65	21	9770	7200	1.36
97	7.69	10.3	11100	8600	1.29
111	7.84	20.6	10900	8200	1.33
112	7.95	18.88	11200	8600	1.30
113	7.97	20.8	10800	7500	1.44
114	8.0	21.5	10500	8000	1.31
117	8.08	21.5	10500	6800	1.54
118	8.19	22.7	10600	7300	1.45
119	8.12	18.52	6420	6100	1.05
120	8.37	11.2	5590	7600	0.74

Table E.3 – Complete values of pH, conductivity, COD, TN, NO₂⁻ and NH₄⁺ concentrations in the MBR permeate during the 120 days of operation

Day	pH	Conductivity (mS/cm)	COD (mgO ₂ /L)	TN (mgN/L)	N-NO ₂ ⁻ (mgN/L)	N-NH ₄ ⁺ (mgN/L)
1	6.44	8.87	-	-	0	72.8
3	7.03	3.32	164	372	14.0	165.1
4	6.8	3.42	94	372	11.5	142.7
5	6.81	3.76	81	543	14.1	125.7
6	6.85	4.05	24	727	14.8	92.4
7	6.95	4.41	55	563	24.8	72.0
10	6.82	3.86	61	492	1.6	0
11	6.79	4.13	34	653	9.9	4.8
12	6.82	4.48	50	589	2.3	8.6
13	6.85	4.31	47	673	0.0	0
14	6.79	4.6	40	678	1.8	0
17	6.67	5.04	61	793	1.4	0
18	7.01	5.45	45	908	1.9	0
19	6.86	6.59	56	1000	6.9	11.2
20	6.56	6.72	59	1109	7.3	0
21	7.22	7.06	64	1218	4.9	0
24	6.66	8.06	78	1182	29.3	106.1
25	6.82	8.23	84	1109	33.5	57.2
26	6.61	7.88	86	1073	5.2	0
27	6.63	7.43	78	1314	5.0	0
28	6.6	8.21	139	1275	9.9	0
31	6.63	9.79	122	1275	25.1	11.0
32	6.45	10.8	100	1196	23.9	30.2
33	6.46	10.83	151	1275	12.8	62.6
34	6.09	10.11	106	1196	5.8	0
35	6.13	9	92	1118	2.5	10.8
38	6.44	7.77	-	1157	137.8	151.8
39	6.57	6.16	-	1186	90.7	39.2
40	6.79	7.15	-	1176	135.4	23.7
41	6.98	6.29	77	626	1.1	0.0
42	7.42	5.62	61	885	0.0	0.0
45	-	1.645	32	670	0.0	0.0
46	6.97	2.7	66	561	0.3	0.0
47	7.00	3.09	43	626	0.0	0.0
48	6.98	3.77	44	407	19.8	0.0
49	6.97	4.19	59	577	7.1	0.0
52	7.17	3.17	45	542	0.0	0.0
53	6.91	3.88	36	692	0.0	0.0
55	6.77	5.22	55	516	0.0	0.0
56	6.79	5.68	51	819	0.0	0.0
59	7.63	6.89	46	950	0.0	0.0
60	7.34	7.75	44	1017	0.0	0.0
61	6.96	8.47	54	1017	0.0	0.7
62	7.96	8.64	60	867	0.0	3
63	7.9	8.78	43	981	22.8	4.3
66	7.93	10.54	70	933	0.0	7.1
67	7.8	10.66	70	1356	0.0	0.0
68	7.17	11.61	116	1600	0.0	9.1
69	6.45	11.21	70	1365	0.0	35.5
70	7.01	11.72	64	775	0.0	0.101
73	6.95	13.1	75	1194	0.0	0.0
74	6.98	14.82	64	1389	0.0	0.0
75	6.99	14.22	57	1194	0.0	14.5
76	7.14	13.91	35	1212	0.0	15.9
77	7.01	14.72	-	2061	0.0	0.0
80	6.89	17.93	90	2303	0.0	32.9
81	6.89	18.56	95	2317	0.0	28.6
82	6.86	18.5	95	2540	0.0	42.5
83	6.85	17.51	89	2803	0.0	44.2
86	6.76	15.14	78	1886	0.0	39.2
87	6.88	13.96	58	2060	0.0	28.6
88	6.91	14	51	1935	0.0	25.4
89	6.94	13.54	64	2060	0.0	0.0
90	6.9	13.7	57	2084	0.0	38.7
96	6.94	11.28	43	1787	0.0	43.2
97	6.94	12.05	51	2134	0.0	29.4
111	6.96	9.49	49	2035	0.0	22.5
112	7.0	11.44	53	2257	0.0	36.5
113	6.84	12.2	61	1969	0.0	57.5
114	7.32	9.95	31	2100	0.0	0.0
117	7.32	9.95	31	1785	0.0	0.0
118	6.97	13.3	55	1916	0.0	0.0
119	6.99	13.8	72	1601	0.0	0.0
120	6.95	-	118	1995	0.0	0.0