



HAL
open science

Méthodes de fiabilisation des bioprocédés à boues activées, traitant des eaux résiduaires industrielles contenant des xénobiotiques inhibiteurs

Feriel Rezouga

► **To cite this version:**

Feriel Rezouga. Méthodes de fiabilisation des bioprocédés à boues activées, traitant des eaux résiduaires industrielles contenant des xénobiotiques inhibiteurs. Génie des procédés. INSA de Toulouse; Faculté des Sciences de Bizerte TUNISIE, 2013. Français. NNT : 2013ISAT0053 . tel-03566718

HAL Id: tel-03566718

<https://theses.hal.science/tel-03566718>

Submitted on 11 Feb 2022

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

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

L'Institut National des Sciences Appliquées de TOULOUSE

En Cotutelle avec

La Faculté des Sciences de Bizerte

Discipline ou spécialité : Génie des Procédés et de l'Environnement

Présentée et soutenue par *Fériel REZOUGA*

Le 29 Novembre 2013

Titre : *Méthodes de fiabilisation des bioprocédés à boues activées, traitant des Eaux Résiduaires Industrielles contenant des xénobiotiques inhibiteurs*

JURY

Mr. Ezzeddine FERJANI
Mr. Jean-Philippe STEYER
Mr. Hédi SHAYEB
Mme. Isabelle QUEINNEC
Mr. Hassib BOUALLEGUI
Mr. Etienne PAUL
Mr. Mathieu SPERANDIO
Mr. Moktar HAMDİ

Professeur FSB
Directeur de Recherche LBE
Professeur ENIT
Directeur de Recherche LAAS
Maître de Conférences INSAT
Professeur INSA
Professeur INSA
Professeur INSAT

Président
Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur
Directeur de thèse
Directeur de thèse
Directeur de thèse

Ecole doctorale : *Mécanique, Energétique, GENie Civil, Procédés (MEGeP)*

Unité de recherche : *Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés de l'INSA de Toulouse*

Directeur(s) de Thèse : Etienne PAUL, Mathieu SPERANDIO et Moktar HAMDİ

Rapporteurs : *Jean-Philippe STEYER et Hédi SHAYEB*

Remerciements

Les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit ont été réalisés au Laboratoire d'Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés (LISBP) du département Génie des Procédés et Environnement de l'Institut National des Sciences Appliquées (INSA) de Toulouse en collaboration avec le Laboratoire d'Écologie et Technologie Microbienne (LETMI) du département de Biologie Industrielle de l'Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (INSAT). Il concrétise le fruit d'une collaboration franco-tunisienne, dans le cadre d'une thèse en cotutelle entre la Faculté des Sciences de Bizerte, (FSB) et l'Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (INSAT).

Je remercie, en premier lieu, **Mr. Ezzeddine Ferjani**, Professeur à la Faculté des Sciences de Bizerte, (FSB), d'avoir bien voulu examiner ce travail et accepter la présidence du jury de thèse.

Mes remerciements s'adressent également à **Mr. Hédi SHAYEB**, Professeur à l'École Nationale des Ingénieurs de Tunis (ENIT), et **Mr. Jean-Philippe STEYER**, Directeur de Recherche au Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) de l'Institut National de Recherche Agronomique (INRA) de Narbonne, d'avoir accepté de rapporter ce travail et d'avoir fourni des commentaires constructifs, qui ont permis d'apporter un œil nouveau sur le travail.

Merci **Mme. Isabelle QUEINNEC**, Directeur de Recherche au Laboratoire d'Automatique et d'Analyse des Systèmes (LAAS) de Toulouse, du Centre National de Recherche Scientifique (CNRS), ainsi que **Mr. Hassib BOUALLEGUI**, Maître Assistant à l'Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (INSAT) de Tunis, de me faire l'honneur de participer à mon jury et d'examiner de près ce travail.

Je tiens également à remercier **Mr. Moktar HAMDİ** pour m'avoir intégrée dans son équipe de recherche et pour avoir accepté de m'accompagner dans ce projet, si spécial pour moi. Depuis que j'étais votre étudiante, vous m'avez fait découvrir le génie biologique, sous un autre angle. Merci pour la richesse que vous m'avez apportée, l'autonomie que vous m'avez apprise, et merci de m'avoir fait confiance, tout au long de ces années.

Un grand merci à **Mr. Etienne PAUL**, pour votre accueil chaleureux et discret, dès mes 1^{ers} jours à l'INSA. Votre co-direction de ce travail m'a honorée. Vous avez été un si élégant chef d'orchestre.

J'adresse mes plus sincères remerciements à **Mr. Mathieu SPERANDIO**, pour avoir encadré ce projet professionnel « atypique » et pour tout ce qu'il a su m'apporter durant toutes ces années, tant sur le plan humain que scientifique. Mathieu, j'ai tant appris à tes côtés, tu auras marqué mon parcours professionnel à jamais. Merci d'avoir été là pour moi.

Ce travail est aussi le résultat d'une collaboration avec **Mme Oifa BOUBAKER** de l'INSAT. Je tiens à la remercier pour sa coopération et son implication.

Merci **Mr. André DERATANI**, d'avoir assuré la coordination du programme CMCU. Les échanges avec vous étaient très agréables.

Je ne pourrais oublier de remercier **Mr. Alain LINE**, et son accueil. Votre œil protecteur m'a souvent rassurée.

Cette thèse n'aurait pu aboutir sans les compétences techniques de **Mr. Evrard MENGELL** et de **Mr. Aldo MORO**.

Merci également à **Mme Danièle CORRADI** qui a toujours répondu agréablement à toutes mes sollicitations.

Mon travail au sein de l'Université Libre de Tunis (ULT), m'a permis de financer une partie de mes travaux de recherche, j'en remercie tout le staff administratif technique et pédagogique, et à leur tête **Mr. Mehdi BOUEBDELLI**. Je suis honorée de la confiance que vous m'avez témoignée.

Enfin je remercie sincèrement toute l'équipe ; stagiaires, docteurs, ingénieurs, doctorants et techniciens de l'équipe symbiose du LISBP et du LETMi pour leur bonne humeur permanente et leur sympathie qui m'ont permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions possibles. Un clin d'œil à Vaïtea, Marlène, les 2 Nicolas, Junfeng, Sergio, Juan-Carlos, Geoffroy, Natalia, Nada, Hana, Imen, Sajiaa, Manel, Hassib, Si Youssef, Ilhem, Nadia, Taroub, Nedra, Eltaief,...

Merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin, d'une manière continue, ou discrète, à l'élaboration et la concrétisation de cet humble travail.

À mes parents

À Ahya

À toi Mohamed

À Nadia, à toute ma famille

Et à tous ceux qui se reconnaîtront.

Résumé

Ce travail de thèse a pour objectif général la conception et la fiabilisation des procédés biologiques, traitant des Eaux Résiduaires Industrielles (ERI) contenant des xénobiotiques inhibiteurs, plus ou moins facilement biodégradables après acclimatation. En effet, les procédés biologiques par boues activées traitant des ERI sont soumis à des perturbations importantes liées à des molécules organiques inhibitrices. La variation temporelle, à la fois, dans la concentration et dans la nature des polluants est une des problématiques de ces systèmes qui doivent garantir une fiabilité du traitement.

Dans un premier temps, l'étude de la dégradation d'une molécule organique modèle inhibitrice : le p-Nitrophénol (p-NP) en réacteur batch (alimentation discontinue) a montré la variabilité des paramètres cinétiques en fonction du niveau d'acclimatation de la population. Par conséquent, l'effet des conditions opératoires d'une phase d'acclimatation sur les paramètres cinétiques d'une culture mixte dégradant le p-NP, a été étudié. Un modèle mathématique spécifique, a été proposé afin de simuler le fonctionnement dynamique d'un procédé à boues activées. Une identification paramétrique a permis la validation de ce modèle qui sera utilisé dans la partie suivante.

Ensuite une méthode d'optimisation multicritères pour dimensionner le procédé à boues activées a été utilisée. Ce dimensionnement a été effectué en prenant en compte la dynamique biologique à l'intérieur des bioréacteurs, ainsi que les événements de surcharge toxiques. L'approche développée est basée sur la modélisation associée à l'analyse des indices de coûts. Outre le cas du p-NP qui est une molécule hydrophile, une extension de cette analyse est proposée pour un micropolluant hydrophobe : Il s'agit d'un hydrocarbure aromatique poly-cyclique : le phénanthrène.

Mots clés : boues activées, bioprocédé, inhibition, composés phénolés, hydrocarbures aromatiques, acclimatation, dimensionnement, paramètres cinétiques, modélisation, optimisation multicritères

Abstract

The overall objective of this work is the design and the reliability of biological processes allowing the treatment of industrial wastewater containing inhibitory xenobiotics, more or less readily biodegradable after acclimation. In fact, biological processes type of activated sludge, treating industrial wastewater, are subject to significant disruptions related to inhibitory organic molecules. The temporal variation, both in the pollutant's concentration and nature, represent one of the common problems of these systems supposed to ensure reliable processing.

As a first step, our study of the degradation of an organic inhibitory molecule: p-Nitrophenol (p-NP) in batch reactor (fed-batch), showed the variation of kinetic parameters in relation to the level of microbial population acclimation. Therefore, we analyzed the effect of operating conditions for acclimation phase of the kinetic parameters of a mixed culture degrading p-NP. A specific mathematical model was proposed to simulate the dynamic operation of the activated sludge process. We validated this model through a parametric identification. The same model will be used in the next section.

As a second step, we used a multi-criteria optimization method for activated sludge process design. This design was obtained by considering the biological dynamics inside the bioreactor as well as toxic overload events. The developed approach is based on modeling associated to indexes cost analysis. In addition to the case of p-NP, an extension of this study is proposed for a hydrophobic micropollutant molecule, namely a polycyclic aromatic hydrocarbon: phenanthrene.

Keywords : activated sludge, bioprocess, inhibition, phenolic compounds, aromatic hydrocarbons, acclimation, process design, kinetic parameters, modeling, multi-criteria optimization

Sommaire

Sommaire	vi
Liste des figures	ix
Liste des tableaux	xiii
Nomenclature	xv
Introduction	xviii
Chapitre I : Revue bibliographique	3
1. Introduction	4
2. Caractérisation de l'inhibition et de la toxicité	5
2.1. Étude mécanistique de l'inhibition microbienne	6
2.1.1. Classification des inhibiteurs selon leur mode d'action	6
2.1.2. Classification des inhibiteurs selon leurs cibles principales	6
2.2. Étude cinétique de l'inhibition microbienne	9
2.2.1. Biodégradabilité des inhibiteurs	9
2.2.1.1. Les tests de biodégradabilité immédiate	10
2.2.1.2. Les tests de biodégradabilité intrinsèque ou inhérente	10
2.2.1.3. Les tests de simulation	11
2.2.2. Quantification de l'inhibition microbienne	11
2.2.2.1. Test d'inhibition de la respiration d'une population hétérotrophe d'une boue activée : Procédure 209 de l'OCDE	13
2.2.2.2. Comparaison des tests d'inhibition	16
2.2.3. Cinétiques d'inhibition microbienne et formalisme	19
2.2.3.1. Inhibition enzymatique par une molécule autre que le substrat	19
2.2.3.2. Inhibition par le substrat	21
3. Traitement des molécules toxiques dérivées du phénol et problématique de l'acclimatation 26	
3.1. Études de la biodégradation du <i>para</i> -nitrophénol	27
3.2. Étude du phénomène d'acclimatation	30
3.3. Modélisation de l'acclimatation	33
1. Optimisation multiobjectif des procédés	39
1.1. Principes de l'optimisation multiobjectif	39
1.2. Formalisme	40
1.3. Solution d'un problème d'optimisation multiobjectif	41
1.4. Théories et méthodes de résolution	42
1.4.1. Choix de la méthode d'aide à la décision (décideur)	43
1.4.2. Classification des méthodes d'optimisation multiobjectif (concepteur)	44
1.5. Algorithmes évolutionnaires	46
1.5.1. Les algorithmes génétiques	47
2. Conclusion	52
Chapitre II : Matériel et Méthodes	54
1. Méthodes expérimentales	55
1.1. Méthode respirométrique	55
1.1.1. Description générale du respiromètre	55
1.1.2. Respirométrie fermée séquencée	56
1.1.3. Essais respirométriques	57
1.1.3.1. Matériel biologique	57
1.1.3.2. Substrats	58
1.1.3.3. Conduite générale des procédures d'acclimatation	58
1.1.3.4. Exploitation des respirogramme	59

2. Techniques analytiques	60
2.1. Chromatographie à haute performance : HPLC	60
2.2. Observation microscopique.....	61
2.3. Autres méthodes analytiques.....	61
3. Méthodes de fiabilisation des procédés	62
3.1. Modélisation et simulation.....	62
3.2. Optimisation multiobjectif.....	63
3.2.1. Stratégie d'optimisation	63
3.2.1.1. Approximation du domaine de Pareto.....	63
Résultats et Discussions	65
Chapitre III : Etude des paramètres cinétiques d'une population mixte dégradant du para-nitrophenol. Variabilité due à l'acclimatation.	66
1. Introduction	67
2. Modélisation mathématique.....	67
3. Validation du modèle	70
3.1. Biomasse non acclimatée	70
3.2. Biomasse acclimatée	71
4. Paramètres cinétique d'une biomasse acclimatée.....	72
4.1. Changements dynamiques des paramètres cinétiques et de la morphologie de la biomasse pendant l'acclimatation	77
4.2. Changements dynamiques des paramètres cinétiques pendant les périodes de carence	82
5. Conclusion.....	85
Chapitre IV : Optimisation multiobjectif du dimensionnement d'un procédé à boues activées traitant un effluent contenant un xénobiotique	87
1. Introduction	88
2. Description du procédé.....	89
3. Modélisation du procédé	90
3.1. Formalisme	90
4. Dimensionnement du décanteur secondaire	92
5. Position du problème d'optimisation	92
5.1. Méthodologie	95
6. Approximation du domaine de Pareto.....	97
6.1. Mise en place de l'espace de décision	97
6.2. Dimensionnement optimal d'un procédé à boues activées classique (scenario 1).....	98
6.3. Optimisation d'un procédé à boues activées dans des conditions de surcharge toxique.....	100
6.4. Effet de la concentration en oxygène sur le dimensionnement optimal : stratégie d'aération.....	102
6.5. Comparaison entre un procédé à boues activé classique et un procédé à alimentation étagée.....	103
6.6. Dimensionnement optimal d'un procédé à boues activées en présence d'un micro-polluant hydrophobe : exemple du phénanthrène.....	106
6.6.1. Positionnement du problème et modèle utilisé	106
6.6.2. Effet de la présence du phénanthrène sur le dimensionnement optimal de la STEP.....	110
7. Conclusion.....	111
Conclusion	113
Références bibliographiques	120
Annexes.....	137

Liste des figures

Figure I.1 : Sites d'action des molécules antiseptiques et désinfectantes selon les micro-organismes (Crémieux et al., 1995)	7
Figure I.2 : Taux de croissance spécifiques et toxicité à différentes concentrations de 4-chlorophénol (Sahinkaya et Dilek, 2009)	12
Figure I.3 : Profils de concentration en oxygène observés durant un cycle de mesure de la toxicité avec une augmentation de la concentration du toxique ; (a) : 3,5-dichlorophénol, (b) : formaldéhyde, (c) : 4-nitrophénol, (d) : dichlorométhane. La flèche indique le point d'ajout du substrat de référence et des toxiques (Rocco et al., 2004).	14
Figure I.4 : Courbes de pourcentage d'inhibition pour les quatre composés testés avec trois répétitions ; (a) : 3,5-dichlorophénol, (b) : formaldéhyde, (c) : 4-nitrophénol, (d) : dichlorométhane (Rocco et al., 2004).	15
Figure I.5 : Schéma général de la transformation enzymatique d'un substrat en un produit en présence d'un inhibiteur compétitif	19
Figure I.6 : Schéma général de la transformation enzymatique d'un substrat en un produit en présence d'un inhibiteur incompétitif	19
Figure I.7 : Schéma général de la transformation enzymatique d'un substrat en un produit en présence d'un inhibiteur non-compétitif	20
Figure I.8 : Oxydation du <i>p</i> -nitrophénol	29
Figure I.9 : Différentes fraction de la DCO du tensioactif dont le modèle d'acclimatation a été développé par Carvalho et al., 2001 ;2002 ;2004	33
Figure I.10 : Valeurs expérimentales (●) et valeurs prédites par le modèle (-) de K_{s1} et K_i (Carvalho et al., 2004).	34
Figure I.11 : Comparaisons des profils expérimentaux et simulés pour des concentrations en phénol et en biomasse en utilisant le modèle à une phase de Haldane ($S_0 = 48-586 \text{ mg.l}^{-1}$) (Chung et al., 2005).	37
Figure I.12 : Comparaisons des profils expérimentaux et prévus de temps pour la concentration en phénol et en biomasse en utilisant le modèle à deux phases de Haldane ($S_0 = 48-586 \text{ mg.l}^{-1}$) (Chung et al., 2005).	38
Figure I.13 : Problème d'optimisation multiobjectif : exemple avec $r=2$ variables de décision et $n=3$ fonctions objectif	40
Figure I.14 : Principe de fonctionnement des algorithmes évolutionnaires	46
Figure I.15 : Algorithme génétique multiobjectif (Dietz et al., 2008)	48
Figure I.16 : Schéma de la stratégie 1 d'optimisation multiobjectif ($tB \in 5-15 \text{ h}$, $S_0 \in 20-50 \text{ g.l}^{-1}$, $X_0 \in 0.05-1.0 \text{ UDO.ml}^{-1}$, $P/V \in 345-2155 \text{ W.m}^{-3}$, $U_g \in 0.0025-0.01 \text{ m.s}^{-1}$)	51
Figure I.16 : Domaine de Pareto optimisé ($K_L a = f(P/V)$)	51
Figure I.17 : Espace des critères après optimisation	51

Figure II.1 : Schéma du respiromètre	56
Figure II.2 : Mesure de la vitesse de consommation d'oxygène sur ; (a) un cycle de mesure ; (b) une succession de cycles de mesure.	57
Figure III.1 : Activité endogène spécifique d'une biomasse non acclimatée lors de l'injection du <i>p</i> -NP (60 mgDCO.l ⁻¹ , 90 mgDCO.l ⁻¹ , 120 mgDCO.l ⁻¹ et, 150 mgDCO.l ⁻¹). Résultats expérimentaux et simulés avec $k = 115 \text{ mgCOD.l}^{-1}$.	71
Figure III.2 : Profils typiques de la vitesse de consommation d'oxygène et du <i>p</i> -NP d'une cinétique conduite en batch suivant une période d'acclimatation. Données expérimentales et simulées ($\mu_{IHO,max} = 1.48 \pm 0.02 \text{ j}^{-1}$, $K_{I,IHO} = 101.0 \pm 2.8 \text{ mgDCO.l}^{-1}$, $K_{S,Sinh,IHO} = 11.40 \pm 0.48 \text{ mgDCO.l}^{-1}$)	72
Figure III.3 : Evolution de la fraction $X_{IHO}(0)/X(0)$ estimée obtenue pour les deux derniers jours du cycle 4.	76
Figure III.4 : Réponses expérimentale et simulées du rO_2 pendant la procédure d'acclimatation avec le <i>p</i> -NP comme unique source de carbone. (a) : rO_2 en fonction du temps ; (b) : taux spécifique de croissance simulé en fonction de la concentration du <i>p</i> -NP.	80
Figure III.5 : Evolution des paramètres du modèle pendant l'acclimatation : (a) $K_{S,Sinh,IHO}$; (b) $K_{I,IHO}$	81
Figure III.6 : (a) Observation microscopique des microorganismes agrégés sous forme de denses floccs ; (b) avec des protozoaires. (c) Flocc déstructuré après 5 jours d'acclimatation à 75 mgDCO.l ⁻¹ de <i>p</i> - NP. (d) Floccs dispersés de taille réduite après 15 jours d'acclimatation à 75 mgDCO.l ⁻¹ de <i>p</i> -NP.	82
Figure III.7 : Exemple de trios réponses successives de rO_2 (expérimentales et simulées) avec des périodes de carence variables. (a) rO_2 en fonction du temps, (b) taux de croissance spécifique simulé en fonction de la concentration en <i>p</i> -NP.	84
Figure IV.1 : Synoptique de l'installation pilote	89
Figure IV.2 : Schéma d'un décanteur cylindo-conique	92
Figure IV.3 : Schéma de la stratégie d'optimisation multiobjectif	94
Figure IV.4 : L'espace de recherche	98
Figure IV.5 : Espace de recherche et front de Pareto	99
Figure IV.6 : L'espace des critères avant et après optimisation	100
Figure IV.7 : Comparaison des scénarios avec et sans surcharge toxique, avec et sans limitation en oxygène (scénarios 1, 2, 5 et 6)	101
Figure IV.8 : Effet de la limitation en oxygène sur les dimensionnements optimaux avec une surcharge toxique (scénarios 2 et 6)	101
Figure IV.9 : impact de la stratégie d'aération, lors d'un fonctionnement en régime permanent, sur un dimensionnement optimal : concentration en substance toxique (Sinh), Indice de Coût d'Investissement (ICI) et Indice de Coût de Fonctionnement (ICF)	103

Figure IV.10 : Comparaison des résultats optimaux d'un réacteur unique et de deux réacteurs en série (alimentation au niveau du 1er réacteur) d'un procédé à boues activées en régime permanent (scénarios 1 et 7) et lors d'une surcharge toxique (scénarios 2 et 8) 104

Figure IV.11 : Comparaison des stratégies de fonctionnement en termes d'Indice de Coût d'Investissement (ICI), Indice de Coût de Fonctionnement (ICF) et d'Indice de Pollution (IP) _____ 105

Figure IV.12: Comparaison des paramètres de la concentration résiduelle de la substance toxique (Sinh) pour chaque scénario d'alimentation lors d'une surcharge toxique _____ 105

Figure IV.13 : Comparaison des points optimaux de dimensionnement et de fonctionnement de la STEP avec et sans phénanthrène _____ 110

Figure IV.14 : Concentration de la pollution dans la phase liquide à la sortie de la STEP après optimisation _____ 111

Figure IV.15 : Evolution de la contribution du phénanthrène solide dans l'IP en fonction des MES (avant et après optimisation) _____ 111

Figure IV.16 : comparaison des MES pour les deux scénarios 1 et 7 (avec et sans HAP) 111

Liste des tableaux

Tableau I.1 : Différents tests d'inhibition spécifiques et non-spécifiques (annexe 2)	12
Tableau I.2 : Les valeurs des EC_{50} mesurées par respirométrie (Rocco et <i>al.</i> , 2004).	14
Tableau I.3 : Comparaison des tests de toxicité rapide (Dalzell et <i>al.</i> , 2002)	18
Tableau I.4 : Valeurs des EC_{50} déterminées par Microtox® (Ricco et <i>al.</i> , 2004)	18
Tableau I.5 : Expression de la vitesse de consommation du substrat et de l' IC_{50} de chaque type d'inhibiteur enzymatique	20
Tableau I.6 : Action de chacun des modes d'inhibition sur les paramètres cinétiques K_M et V_{max}	21
Tableau I.7 : Caractéristiques physico-chimique du <i>p</i> -NP	28
Tableau II.1 : Composition du substrat synthétique facilement biodégradable	58
Tableau II.2 : Caractérisation des procédures d'acclimatation au <i>p</i> -NP	59
Tableau II.3 : Méthodes analytiques normalisées	62
Tableau III.1 : Caractérisation des procédures d'acclimatation au <i>p</i> -NP	69
Tableau III.2 : Les paramètres cinétiques identifiés à la fin de la procédure d'acclimatation.	73
Tableau III.3 : Effet de la variation du rapport des substrats (R) sur la durée de dégradation du multsubstrat ($S_B + S_{inh}$) et du monosubstrat (S_{inh})	76
Tableau III.4 : Effet de la carence sur les paramètres cinétiques	83
Tableau IV.1 : Cinétique du modèle mathématique	91
Tableau IV.2 : Différents scénarios de conduite du procédé	96
Tableau IV.3 : Scénario de conduite du procédé en présence d'un HAP	106
Tableau IV.4 : cinétique du modèle mathématique en présence d'un micropolluant	108
Tableau IV.5 : Caractérisation des différents tests de biodégradabilité immédiate	141
Tableau IV.6 : Caractérisation des différents tests de biodégradabilité intrinsèque ou inhérente	144
Tableau IV.7 : Exemples de modèles simulant l'inhibition par le produit	146

Nomenclature

Abbréviation	Désignation	Unité
b_{IHO}	Constante de décès de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le p -NP	T^{-1}
b_{OHO}	Constante de décès de la biomasse hétérotrophe	T^{-1}
D	Diamètre du décanteur	L
D_e	Taux de dilution de l'affluent	T^{-1}
D_p	Taux de dilution de la purge	T^{-1}
F_s	Fraction de survie	-
f_{X_U}	Fraction inerte de la DCO de la biomasse	-
H	Hauteur cylindrique	L
h	Hauteur conique	L
H°	Constante de Henry	$ML^2T^{-2}N^{-1}$
IB	Indice des boues	$L^3.M$
IC	Indice de coût	L^3
ICF	Indice de coût de fonctionnement	L^3
ICI	Indice de coût d'investissement	L^3
$k_{b,HAP}$	Constante de croissance des hétérotrophes qui dégradent le HAP sur $S_{HAP,aq}$	$L^3.M^{-1}.T^{-1}$
$k_{SB,HAP}$	Constante de croissance des hétérotrophes qui dégradent le HAP sur $S_{HAP,aq}$	$L^3.M^{-1}.T^{-1}$
$b_{bio,HAP}$	Constante de décès de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le S_B	T^{-1}
$q_{hyd,OHO}$	Constante de vitesse d'hydrolyse de la population hétérotrophe	T^{-1}
$q_{hyd,IHO}$	Constante de vitesse d'hydrolyse de la population hétérotrophe qui dégrade le p -NP	T^{-1}
$K_{S,hyd}$	Constante d'hydrolyse	-
$K_{pb,HAP}$	Constante de partage du HAP entre les phases L/S (adsorption)	$L^3.M^{-1}$
$X_{bio,HAP}$	Biomasse active hétérotrophe capable de dégrader le $S_{HAP,aq}$	$M.L^{-3}$
Q_{air}	Débit d'air	$L^3.T^{-1}$
$K_{L,IHO}$	Constante d'inhibition de la population hétérotrophe qui dégrade le p -NP	$M.L^{-3}$
$K_{L,OHO}$	Constante d'inhibition de la population hétérotrophe	$M.L^{-3}$
K_{La1}	Coefficient de transfert du p -NP gazeux de la phase gazeuse à la phase liquide	T^{-1}
K_{LaO_2}	Coefficient de transfert d'oxygène de la phase gazeuse à la phase liquide	T^{-1}
$K_{O_2,IHO}$	Coefficient de saturation en oxygène de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le p -NP	$M.L^{-3}$
$K_{O_2,OHO}$	Coefficient de saturation en oxygène de la biomasse hétérotrophe	$M.L^{-3}$
$K_{S,...}$	Coefficient de saturation en substrat de la biomasse hétérotrophe	$M.L^{-3}$
$K_{S,...,IHO}$	Constante de $\frac{1}{2}$ saturation de la population hétérotrophe qui dégrade le p -NP	$M.L^{-3}$
$K_{S,...,OHO}$	Constante de $\frac{1}{2}$ saturation de la population hétérotrophe	$M.L^{-3}$
K_S^{BI}	Coefficient de saturation en substrat inhibiteur de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le p -NP	$M.L^{-3}$
M	Nombre total de points de l'espace de décision	
MES	Matières en suspension	$M.L^{-3}$
N_0	Nombre de points non-dominés	
Q_e	Débit d'entrée	$L^3.T^{-1}$

Q_I	Débit d'alimentation du réacteur	$L^3.T^{-1}$
Q_p	Débit de purge	$L^3.T^{-1}$
Q_R	Débit de recyclage	$L^3.T^{-1}$
Q_S	Débit de soutirage	$L^3.T^{-1}$
r_{GL}	Flux de p -NP transféré de la phase gaz à la phase liquide	
r_{O_2}	Vitesse de consommation d'oxygène	$M.L^{-3}.h^{-1}$
S	Surface utile du décanteur	L^2
S_B	Concentration du substrat soluble rapidement biodégradable	$M.L^{-3}$
$S_{HAP,aq}$	Concentration du substrat de type HAP en phase aqueuse	$M.L^{-3}$
S_{Inh}	Concentration du substrat soluble inhibiteur	$M.L^{-3}$
S_{O_2}	Concentration de l'oxygène dissous	$M.L^{-3}$
S_U	Matière soluble inerte (non biodégradable)	$M.L^{-3}$
TRH	Temps de rétention hydraulique	T
TRS	Temps de rétention des solides	T
V_a	Vitesse ascensionnelle ou charge hydraulique superficielle	$L.T^{-1}$
V_c	Volume corrigé	-
V_{dec}	Volume du décanteur	L^3
V_{rea}	Volume du bioréacteur	L^3
X	Concentration en biomasse hétérotrophe totale dans le bioréacteur	$M.L^{-3}$
$X_{bio,HAP}$	Biomasse active hétérotrophe qui dégrade le $S_{HAP,aq}$	$M.L^{-3}$
X_{C_B}	Concentration du substrat lentement biodégradable	$M.L^{-3}$
X_{IHO}	Biomasse active hétérotrophe qui dégrade l'inhibiteur	$M.L^{-3}$
X_{OHO}	Biomasse active hétérotrophe classique	$M.L^{-3}$
$X_{S_{HAP}}$	Substrat de type HAP en phase aqueuse et en phase solide	$M.L^{-3}$
$X_{S_{HAP}}$	Concentration du substrat de type HAP en phase aqueuse et en phase solide	$M.L^{-3}$
$X_{U,E}$	Concentration en matière particulaire non biodégradable issue de la lyse	$M.L^{-3}$
$X_{U,Inf}$	Matière particulaire inerte (non biodégradable), apportée par l'affluent	$M.L^{-3}$
$Y_{.,IHO,.}$	Rendement de conversion de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le p -NP	-
$Y_{.,OHO}$	Rendement de conversion de la biomasse hétérotrophe	-
μ_{IHO}	Taux spécifique aximal de croissance de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le p -NP	T^{-1}
$\mu_{IHO,max}$	Taux spécifique maximal de croissance de la biomasse hétérotrophe capable de dégrader le p -NP	T^{-1}
μ_{OHO}	Taux spécifique de croissance de la biomasse hétérotrophe	T^{-1}
$\mu_{OHO,max}$	Taux spécifique maximal de croissance de la biomasse hétérotrophe	T^{-1}

Introduction

D'après le 4^{ème} rapport mondial de l'ONU sur la mise en valeur des ressources en eau, les risques pour la santé humaine constituent, sans doute, le problème lié à l'eau, le plus grave et le plus répandu. Afin de préserver cette richesse, il est nécessaire d'éviter sa contamination. Au cours de son cycle naturel, l'eau se trouve fortement imprégnée par son environnement et ses points de passage. Après traitement, les eaux usées sont déversées dans les milieux récepteurs qui sont, généralement, en même temps les points de captage, ou du moins, en relation directe ou indirecte avec ces derniers. Par conséquent, maîtriser la qualité des eaux usées, quelque soit leur source, revient à contrôler, en partie, la qualité de l'eau en amont. Bien que cette dernière soit répartie différemment d'un pays à l'autre, et d'une région à l'autre, les postes de prélèvement les plus importants restent le réseau public, l'agriculture, l'industrie, le refroidissement des centrales thermiques... Outre, la forte pression qu'ils exercent sur la disponibilité des ressources en eau, leur incidence sur la qualité de l'eau est certaine.

En regard de la rareté et de la vulnérabilité des ressources en eau, il devient nécessaire de fiabiliser les procédés de traitement des eaux usées et leur conduite. Le traitement des eaux résiduaires, notamment industrielles, constitue l'une des plus grandes préoccupations des organismes gouvernementaux de protection de l'environnement. Un certain nombre de molécules inhibitrices, voire toxiques, sont classées parmi les molécules prioritaires par l'OCDE. La gestion des molécules organiques toxiques pose un problème majeur lors du traitement biologique des eaux résiduaires industrielles (ERI). En effet, les campagnes de production peuvent conduire à des décharges discontinues de molécules présentant des propriétés inhibitrices sur les populations microbiennes des procédés d'épuration.

Afin d'optimiser l'élimination de ces xénobiotiques par des procédés à boues activées, il est nécessaire de maîtriser la biocinétique de transformation de ces molécules. L'étude cinétique pourrait permettre alors, de construire des modèles mathématiques fiables, capables de prédire le fonctionnement du traitement biologique dans une station d'épuration des eaux résiduaires industrielles. En outre, optimiser un procédé revient à optimiser son dimensionnement, étape cruciale basée le plus souvent sur des outils de dimensionnement empiriques insatisfaisant pour le traitement de xénobiotiques.

Pour cela, ce travail de thèse a pour objectif général la conception et la fiabilisation des procédés biologiques, traitant des ERI contenant des xénobiotiques inhibiteurs, plus ou moins facilement biodégradables après acclimatation. Ce manuscrit est organisé en 4 chapitres :

Une revue bibliographique, est présentée dans le chapitre I qui comporte 3 parties. La première partie introduit les phénomènes de toxicité et d'inhibition microbienne. Les inhibiteurs sont classés d'un point de vue mécanistique ; en fonction de leurs cibles principales, et de leur mode d'action ; ainsi que d'un point de vue cinétique. Puis dans la 2^{ème} partie, le traitement biologique des dérivés phénolés tel que le *p*-nitrophénol (*p* NP) est décrit. Les phénomènes de biodégradation et d'acclimatation y sont décrits. La 3^{ème} partie va plutôt décrire les différentes méthodes d'optimisation multiobjectif, dont les algorithmes évolutionnaires, utilisés dans l'optimisation des procédés.

Le chapitre II décrit d'un côté, les différents outils et matériels expérimentaux utilisés, notamment l'installation pilote à boues activées équipée de respirométrie. Les techniques analytiques routinières y sont aussi détaillées. D'un autre côté, sont décrites les méthodes mathématiques de modélisation, simulation et d'optimisation paramétrique et multiobjectif.

Dans le chapitre III, il s'agit d'étudier, l'effet des conditions opératoires d'une phase d'acclimatation sur les paramètres cinétiques d'une culture mixte dégradant le *p* NP. Un modèle mathématique spécifique, sera proposé afin de simuler le fonctionnement dynamique d'un procédé à boues activées. Une identification paramétrique permettra la validation de ce modèle qui sera utilisé dans le chapitre suivant.

L'objectif du chapitre IV est d'évaluer une méthode d'optimisation multicritères pour dimensionner le procédé à boues activées décrit dans le chapitre précédent. Ce dimensionnement sera effectué en prenant en compte la dynamique biologique à l'intérieur des bioréacteurs, ainsi que les événements de surcharge toxiques. L'approche développée est basée sur la modélisation associée à l'analyse des indices de coûts.

Outre le cas du *p*-NP qui est une molécule hydrophile, une extension de cette analyse est proposée pour un micropolluant hydrophobe : Il s'agit d'un hydrocarbure aromatique poly-cyclique : le phénanthrène.

Enfin les principaux résultats obtenus seront synthétisés dans une conclusion générale qui se terminera par des perspectives offrant une éventuelle continuité à ce travail.

Chapitre I : Revue bibliographique

1. Introduction

La maîtrise des traitements secondaires dans une STEP traitant des ERI commence, tout d'abord, par une connaissance approfondie de leur fonctionnement mais aussi de leur conception. Les boues activées étant les procédés les plus répandus, on a choisi d'étudier ce procédé en présence d'ERI contenant une molécule inhibitrice de l'activité microbienne, le *p*-nitrophénol (*p*-NP).

Ce travail s'insère dans le cadre d'une problématique générale d'actualité qui est celle des eaux résiduaires contenant des composés toxiques ou des micropolluants. La communauté européenne, via la DCE 2000/60/CE a légiféré autour de ce thème. Elle définit un cadre pour la gestion et la protection des eaux par grand bassin hydrographique au plan européen avec une perspective de développement durable. L'objectif pour 2015 est le « *bon état écologique* » des milieux aquatiques et du bassin versant. Cette directive liste 41 substances prioritaires. Les molécules aromatiques ciblées ont également la particularité d'être présentes dans les effluents d'industries chimiques, pétrochimiques et pétrolières, certains dérivés du phénol et Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAPs). Certains composés phénolés n'ont pas été cités par cette directive mais apparaissent dans la liste des contaminants dangereux de la US EPA (United States Environmental Protection Agency) tel que le *p*-NP (EPA, 1980).

La question qui se pose : comment fiabiliser des procédés à boues activées traitant des ERI contenant des xénobiotiques inhibiteur de l'activité microbienne ?

Les problématiques scientifiques en découlant :

- Nécessité de prédire les cinétiques de populations mixtes dégradant des molécules xénobiotiques et leur adaptation.
- Nécessité d'optimiser le dimensionnement des procédés existant en intégrant de nouvelles contraintes (outre la minimisation de la consommation d'énergie) :
 - la capacité à dégrader les composés toxiques et la robustesse des procédés face à des variations de charge.
 - la minimisation simultanée de ces molécules dans les rejets liquides, gazeux, et solides.

La revue bibliographique se divise en 3 parties. Tout d'abord, les phénomènes de toxicité et d'inhibition microbienne sont introduits. Les inhibiteurs sont classés d'un point de vue mécanistique et cinétique. Puis dans la 2^{ème} partie, le traitement biologique des dérivés

phénolés tel que le *p*-nitrophénol (*p*-NP) est décrit. L'acclimatation est abordée dans cette partie. Enfin, les méthodes d'optimisation multiobjectif, dont les algorithmes évolutionnaires, utilisés dans l'optimisation des procédés lors du dimensionnement et pendant le fonctionnement, sont passées en revue et synthétisées.

2. Caractérisation de l'inhibition et de la toxicité

Les agents antimicrobiens peuvent être classés en agents inhibiteurs, ou en agents toxiques. A ce stade, il est important de faire la différence entre la notion d'inhibition qui correspond à une baisse de l'activité spécifique ou globale des cellules microbiennes et la notion de toxicité qui évoque une inhibition complète et irréversible de cette activité, induisant à terme une lyse cellulaire. Ces agents peuvent avoir une origine :

- **biogénique** : composé naturel qui est produit par des organismes vivants.
- **xénobiotique** : produit chimique étranger aux organismes vivants, le plus souvent synthétisé par l'homme qu'on trouve dans un environnement naturel mais qui ne sont pas produits par un organisme vivant et sont difficilement dégradables par les micro-organismes.

D'après Ros (1993), L'inhibition peut être le résultat de l'interférence avec:

- Le bilan osmotique ;
- Le système enzymatique ;
- La concentration en substances toxiques ;
- D'autres facteurs tels que : le niveau d'alimentation, la température, la nature de la biomasse...

Dans certains cas la microflore peut s'acclimater à un certain niveau de concentration en substances inhibitrices. Ros (1993), déclare aussi que la toxicité en oxydation biologique peut être due à la présence d'une ou plusieurs de ces substances :

- Les substances organiques toxiques à fortes concentrations mais biodégradables à faibles concentrations (exemples : phénol, formaldéhyde).
- Substances ayant un seuil de toxicité dépendant des conditions opératoires (exemples : métaux lourds).
- Sels minéraux et ammonium qui retardent la croissance microbienne à des concentrations élevées.

2.1. Étude mécanistique de l'inhibition microbienne

2.1.1. Classification des inhibiteurs selon leur mode d'action

D'après Fleurette et *al.* (1995), les agents antimicrobiens autres que les antibiotiques sont classés en deux grands groupes :

- Les produits potentiellement létaux

Les produits potentiellement létaux sont classés en deux grands groupes selon la spécificité de leur action sur les cellules microbiennes :

- Les composés chimiquement très réactifs

Ils ont une action brutale, rapide, temporaire et souvent non spécifique (poisons protocytoplasmiques). Pourront se rattacher à ce groupe les oxydants, avec l'eau oxygénée, les halogénés (chlore, iode) et l'oxyde d'éthylène, ainsi que les acides et les bases forts, les aldéhydes, les phénols...

- Les composés chimiquement stables à action plus spécifique

C'est le groupe comprenant les ammoniums quaternaires, les dérivés phénoliques autres que le phénol, la chlorhéxidine, l'héxamidine, l'hexétidine, la dipromopropamidine et les acridines.

- Les produits non létaux mais inhibiteurs de croissance

- Ils comprennent essentiellement les métaux (mercuriels, dérivés du cuivre, du zinc, de l'argent, etc.) et les colorants.

2.1.2. Classification des inhibiteurs selon leurs cibles principales

Selon leur nature et la concentration utilisée, les agents inhibiteurs ont une ou plusieurs cibles. Mais dans la majeure partie des cas, l'accès à la cible nécessite le franchissement de la paroi cellulaire qui est un obstacle à la fois physique et chimique. Les divers types d'organisation de la paroi chez les micro-organismes conditionnent l'accès aux principales cibles et sont donc responsables de la spécificité d'action de certains de ces agents antimicrobiens.

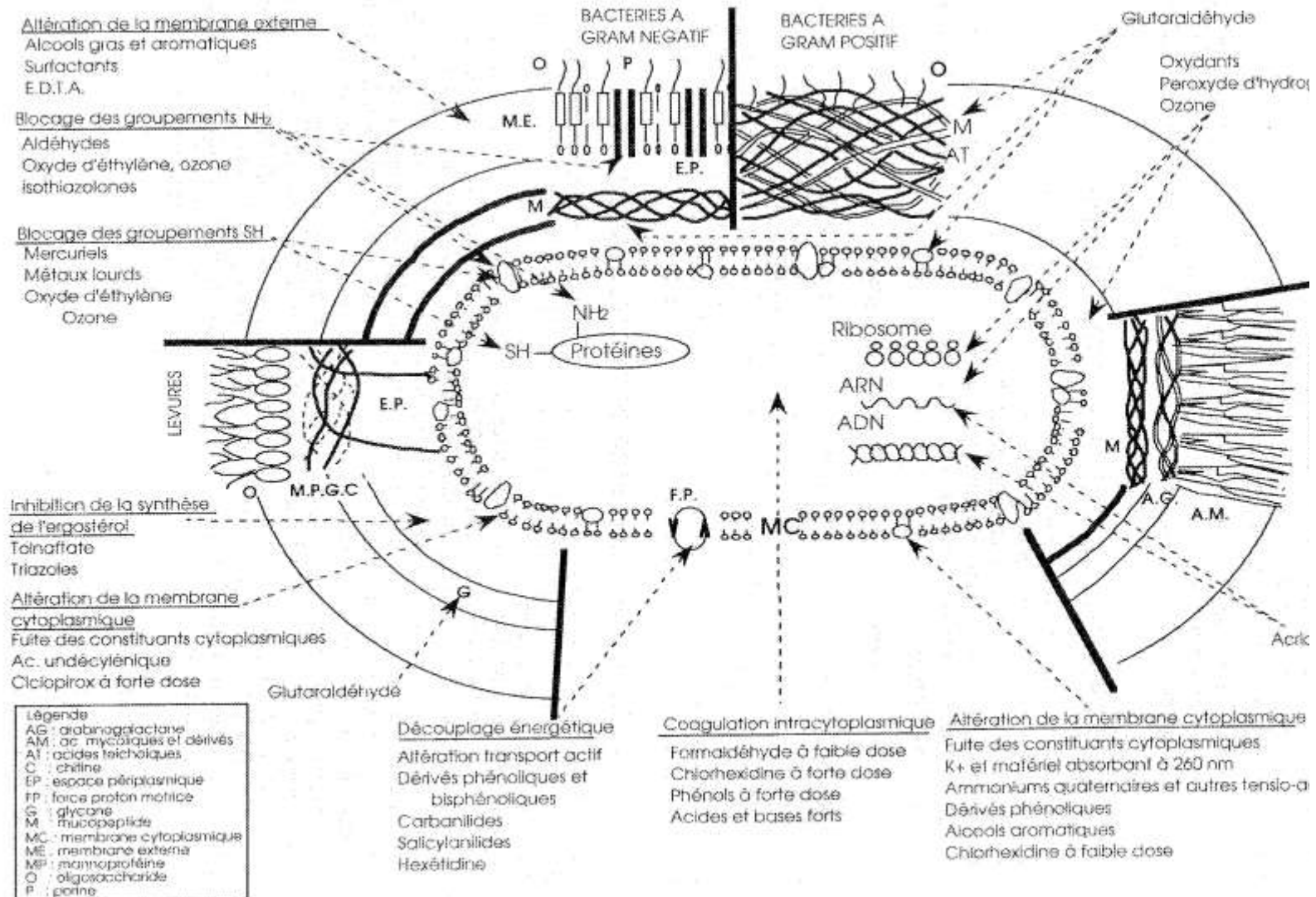


Figure I.1 : Sites d'action des molécules antiseptiques et désinfectantes selon les micro-organismes (Crémieux et al., 1995)

Salton (1968) a décrit quatre étapes dans l'action des agents antimicrobiens :

- Adsorption sur la cellule suivie de la pénétration dans la paroi ;
- Réactions complexes avec la membrane cytoplasmique conduisant à sa désorganisation ;
- Sortie des composants de faible poids moléculaire du cytoplasme ;
- Lyse de la paroi causée par les enzymes autolytiques.

Ce schéma s'applique plus particulièrement aux nombreux agents qui interagissent avec la membrane cytoplasmique. La séquence des événements peut être différente avec d'autres principes actifs. Mais dans tous les cas, la première étape implique l'adsorption de l'agent antimicrobien à la surface cellulaire.

Quelques exemples sont détaillés dans la Figure I.1.

La membrane cytoplasmique reste le site principal d'action des inhibiteurs. Elle assure le métabolisme énergétique de la cellule et est responsable du transport et du maintien des métabolites à l'intérieur de la cellule (Hugo et *al.*, 1992).

La première atteinte par une molécule antimicrobienne consiste en une modification de la perméabilité de cette membrane et en la libération des constituants cellulaires. Si elle n'est pas très concentrée et son action n'est pas trop prolongée, l'altération peut être réversible et la fuite du matériel intracellulaire ne provoquera qu'une inhibition de la croissance.

Un deuxième type d'action au niveau de la membrane peut consister en une inhibition de la production d'énergie. L'influence de certains produits toxiques sur la force protonique a permis de caractériser certaines molécules notamment dans le groupe des phénoliques dont les nitrophénols tel que le *para*-nitrophénol, le fentichlor, le pentachlorophénol...

Au niveau de la membrane on peut avoir une interférence avec la chaîne de transport des électrons ou avec des enzymes membranaires impliquées dans la production d'énergie.

La notion de couplage entre la réaction de phosphorylation de l'ATP et les oxydoréductions de la chaîne respiratoire, permet de définir un nouveau type de régulateurs de cette voie métabolique, les découplants.

Le découplant est un corps chimique qui empêche le transfert de l'énergie entre les enzymes d'oxydoréduction et l'ATP. D'après Fleurette et *al.*, (1995), les phénols substitués sont connus pour être des découplants énergétiques.

D'un autre côté, à l'intérieur du cytoplasme, l'inactivation des métabolismes et enzyme pourrait être totale par la dénaturation, ou ménagée, par des réactions au niveau des groupements thiols et des fonctions hydroxylés, carboxyliques, et amines.

2.2. Étude cinétique de l'inhibition microbienne

Kong *et al.*, (1994) citent trois effets majeurs des substances toxiques sur le processus de biodégradation :

- Les substances toxiques peuvent inhiber leur propre dégradation par une inhibition par le substrat c'est l'exemple des phénols (Rezouga *et al.*, 2009). Les techniques d'estimation des paramètres cinétiques sont bien développées et largement étudiées (Volskay et Grady, 1990 ; Tomei *et al.*, 2003, Rezouga *et al.*, 2009 ; Mozo *et al.*, 2012).
- Les substances toxiques peuvent influencer la vitesse de dégradation des composés (biogéniques et xénobiotiques) lorsqu'il y a des interactions complexes, la modélisation de ce phénomène n'est pas simple (Santiago et Grady, 1990 ; Cokgor *et al.*, 2011).
- Les substances toxiques peuvent inhiber la biodégradation des composés organiques biogéniques par les micro-organismes, qui sont alors incapables de dégrader les composés xénobiotiques.

2.2.1. Biodégradabilité des inhibiteurs

D'après Pitter et Chudoba (1990) la prospection de la biodégradabilité des substances cibles doit rejoindre ces trois points écologiques importants :

- L'adaptation des bactéries est-elle nécessaire ?
- Quels sont la vitesse et le degré de biodégradation sous des conditions données ?
- Est-il possible d'atteindre la minéralisation ultime ou est-ce que des composés (sous produits ?) toxiques sont produits ?

Pour répondre à ces questions plusieurs stratégies d'analyse ont été développées. En 1990, Pitter et Chodoba ont proposé une classification en accord avec l'OCDE. Trois groupes de tests ont été définis :

- Tests de biodégradabilité immédiate ou facile.
- Tests de biodégradabilité intrinsèque ou inhérente.
- Tests de simulation.

2.2.1.1. Les tests de biodégradabilité immédiate

D'après Lapertot et Pulgarin (2006) les tests à biodégradabilité immédiate indiquent si le composé est dégradé sous des conditions naturelles sans aucun problème. Il existe six méthodes qui permettent le « screening » des composés chimiques pour voir s'ils sont effectivement biodégradables dans des milieux aqueux aérobies (Gourdon, 2002 ; Lapertot et Pulgarin, 2006). Les annexes du chapitre illustrent les principales caractéristiques de ces différentes méthodes de biodégradabilité immédiate.

Tous ces tests informatifs distinguent, sans équivoque, des composés facilement biodégradables des autres mais sous-estiment souvent la potentialité de dégradation dans des systèmes environnementaux (Lapertot et Pulgarin, 2006), ainsi que la possibilité de biodégradation et d'acclimatation des composés testés lorsque le temps de contact est supérieur à celui du test effectué (Gourdon, 2002). Lorsqu'un test est négatif, cela ne signifie pas nécessairement que la substance organique est récalcitrante mais indique que des études complémentaires avec des tests de biodégradation intrinsèque sont nécessaires pour évaluer sa biodégradabilité (Gourdon, 2002 ; Lapertot et Pulgarin, 2006). Par conséquent, nous avons fait le choix de la terminologie « biodégradabilité immédiate » plutôt que « biodégradabilité facile » pour insister sur l'importance du temps de contact imposé par les différents tests.

2.2.1.2. Les tests de biodégradabilité intrinsèque ou inhérente

Pour la catégorie des tests à biodégradabilité intrinsèque, Lapertot et Pulgarin (2006), déclarent que la concentration du composé ciblé et de l'inoculum (généralement des boues activées) sont plus importantes que pour les tests de biodégradabilité immédiate, et le rapport (S_0/X_0) est en faveur des micro-organismes qui peuvent s'adapter pendant de longues périodes. Ces tests fournissent des informations quant à la biodégradabilité des substances étudiées. Un composé donnant un résultat positif dans un essai de ce type peut être classé comme intrinsèquement biodégradable. Cependant à cause des conditions favorables qui ont été employées, on ne peut être sûr que dans l'environnement, sa biodégradation soit rapide et sûre, Gourdon (2002).

L'OCDE propose trois méthodes distinctes permettant d'évaluer la biodégradabilité intrinsèque d'une substance organique en milieu aqueux et en conditions aérobies, Gourdon (2002). Le Tableau IV.6 (annexe 1) illustre les principales caractéristiques des différents tests de biodégradabilité intrinsèque ou inhérente.

2.2.1.3. Les tests de simulation

Ces tests confirment les résultats des tests précédents qu'ils soient positifs ou négatifs.

D'après Gourdon (2002), les tests de simulation sont des essais qui fournissent une idée du taux de biodégradation, dans quelques conditions d'environnement bien déterminées. Les essais de ce genre peuvent être subdivisés suivant le type d'environnement qu'ils sont destinés à simuler : traitement biologique (aérobie), traitement biologique (anaérobie), rivière, lac, estuaire, mer, sol.... Par définition, les essais de simulation nécessitent en amont un travail permettant la simulation du système étudié. Par conséquent, il existe actuellement peu de procédures standardisées.

2.2.2. Quantification de l'inhibition microbienne

Les procédures d'évaluation de la biodégradabilité des substances organiques peuvent être complétées par des essais d'évaluation de sa toxicité ou de son effet inhibiteur. Cette évaluation est obtenue en comparant les activités biologiques obtenues dans un système de référence (sans agent inhibiteur ou toxique) avec un système contenant la substance testée (ou la substance testée en mélange avec la substance de référence), et ce dans les mêmes conditions d'incubation.

D'une manière générale, afin de quantifier, classiquement, l'inhibition, l' IC_{50} et/ou l' EC_{50} sont déterminés. Ces deux paramètres sont définis comme suit

- IC_{50} : concentration en inhibiteur nécessaire pour diminuer la vitesse réactionnelle jusqu'à 50% de sa valeur maximale non-inhibée (Gutiérrez et al., 2002) ;
- EC_{50} : concentration efficace d'un produit à expérimenter produisant une inhibition de 50% par rapport à l'essai à blanc, déduite par calcul ou par interpolation (ISO 8192-1986).

De nombreux tests d'inhibition ont été proposés. Certains de ces tests sont normalisés, d'autres sont assez spécifiques et n'ont pas fait l'objet de plusieurs études. Parmi ces tests, certains sont effectués sur des micro-organismes très spécifiques et d'autres, sont destinés à caractériser une population mixte telles que les boues activées.

Sahinkaya et Dilek (2009) se sont basés sur l'effet de différentes concentrations de 4-chlorophenol sur la réduction du taux spécifique de croissance de *Chlorella vulgaris* afin de déterminer un $IC_{50} = 37 \text{mg.l}^{-1}$ (Figure I.2).

Il existe plusieurs tests d'inhibition. Ils peuvent être classés en 2 groupes selon que la population de la biomasse utilisée soit pure ou mixte. Dans le premier cas, ils sont dits spécifiques, sinon ils sont classés parmi les tests non spécifiques (Tableau I.1 et annexe 2).

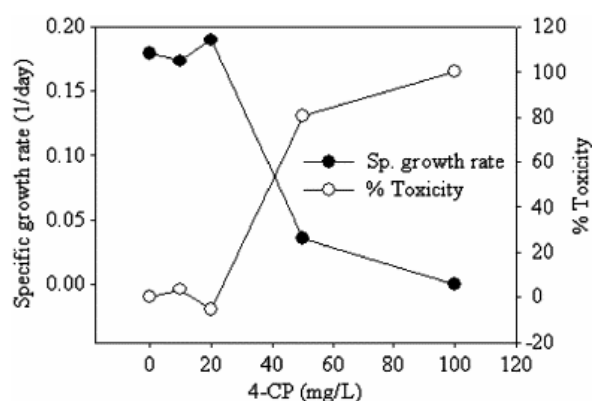


Figure I.2 : Taux de croissance spécifiques et toxicité à différentes concentrations de 4-chlorophénol (Sahinkaya et Dilek, 2009)

Tableau I.1 : Différents tests d'inhibition spécifiques et non-spécifiques (annexe 2)

Test	Micro-organismes	Principe	Références
Microtox®	<i>Photobacterium phosphoreum</i> ou <i>Vibrio fischeri</i>	L'activité photoluminescente des bactéries est diminuée lors d'un dérèglement métabolique	AFNOR T 90-320 et ISO 11348
Daphnie	<i>Daphnia magna</i>	Inhibition estimée en comptant le nombre de micro-organismes immobiles après 24 h de contact avec le composé à tester	AFNOR T90 301
Inhibition de l'activité déshydrogénasique : TTC test	Pure / Mixte	Activité déshydrogénasique quantifiée par dosage colorimétrique du triphénylformazan issu de la réduction du triphényltetrazolium (TTC).	Ryssov-Nielsen, 1975
Adénosine TriPhosphate (ATP) luminescence	Pure / Mixte	Détection de l'ATP basée sur la bioluminescence du système enzymatique luciférine luciférase	Crouch et al., 1993
Inhibition de la croissance	Pure / Mixte	Mesure de l'intensité de la croissance microbienne par mesure optique, pour différentes concentrations en composés	Alsop et al., 1980
Inhibition de la métabolisation du substrat	Pure / Mixte	Mesure de l'évolution de la concentration en glucose par marquage radioactif	Larson et al., 1982

2.2.2.1. Test d'inhibition de la respiration d'une population hétérotrophe d'une boue activée : Procédure 209 de l'OCDE

Ce test a été mis en œuvre pour déterminer l'EC₅₀ de composés non volatiles vis à vis de la biomasse hétérotrophe d'une boue activée. L'activité respirométrique des micro-organismes est mesurée après ajout d'un substrat nutritif en suivant l'évolution de l'oxygène dissous dans un dispositif hermétique. Le temps de contact est de 30 minutes ou de 3 heures. Le composé de référence utilisé dans cette méthode est le 3,5 dichlorophénol. Ce test normalisé a fait l'objet de nombreuses études mettant en évidence sa sensibilité et sa reproductibilité.

Ricco et *al.*, (2004) ont étudié la toxicité de quatre composés xenobiotique, le 3,5-dichlorophénol, le formaldéhyde, le 4-nitrophénol et le dichlorométhane, qui sont des contaminants des eaux résiduaires industrielles, et l'ont évaluée à l'aide d'un procédé respirométrique conduit suivant la méthode la procédure 209 de l'OCDE. Lors de ces expériences, les auteurs ont utilisé l'acétate comme substrat de référence au lieu du substrat OCDE. Les boues avaient une concentration de MVS entre 600 et 1000 mg.l⁻¹. La température à l'intérieur du respiromètre a été fixée à T=20 ± 1°C. Le substrat de référence (30 mg DCO.l⁻¹) ainsi que le composé à tester (5 différentes concentrations sont testées pour chaque composé) sont injectés en même temps dans le respiromètre. Pour chacune des expériences, les boues sont renouvelées dans le respiromètre. Le taux spécifique de respiration (SOUR) détecté immédiatement après l'ajout est relevé pour le calcul du taux d'inhibition. Les profils de concentration en oxygène dissous correspondant aux quatre composés testés sont représentés dans la Figure I.3. Chacune des expériences est répétée trois fois.

Dans cette étude, les valeurs de SOUR_{max_T} obtenues aux différentes concentrations en toxique et les valeurs de l'échantillon témoin (SOUR_{max_C}) ont été utilisées pour évaluer le pourcentage d'inhibition comme suit :

$$\%inhibition = \frac{SOUR_{max_C} - SOUR_{max_T}}{SOUR_{max_C}} \quad \text{Équation I.1}$$

- SOUR_{max_C} : le taux maximum spécifique de respiration détecté dans l'échantillon témoin juste après l'ajout du substrat de référence seul ;
- SOUR_{max_T} : le taux maximum spécifique de respiration détecté dans l'échantillon de mesure juste après le double ajout du substrat de référence et du toxique.

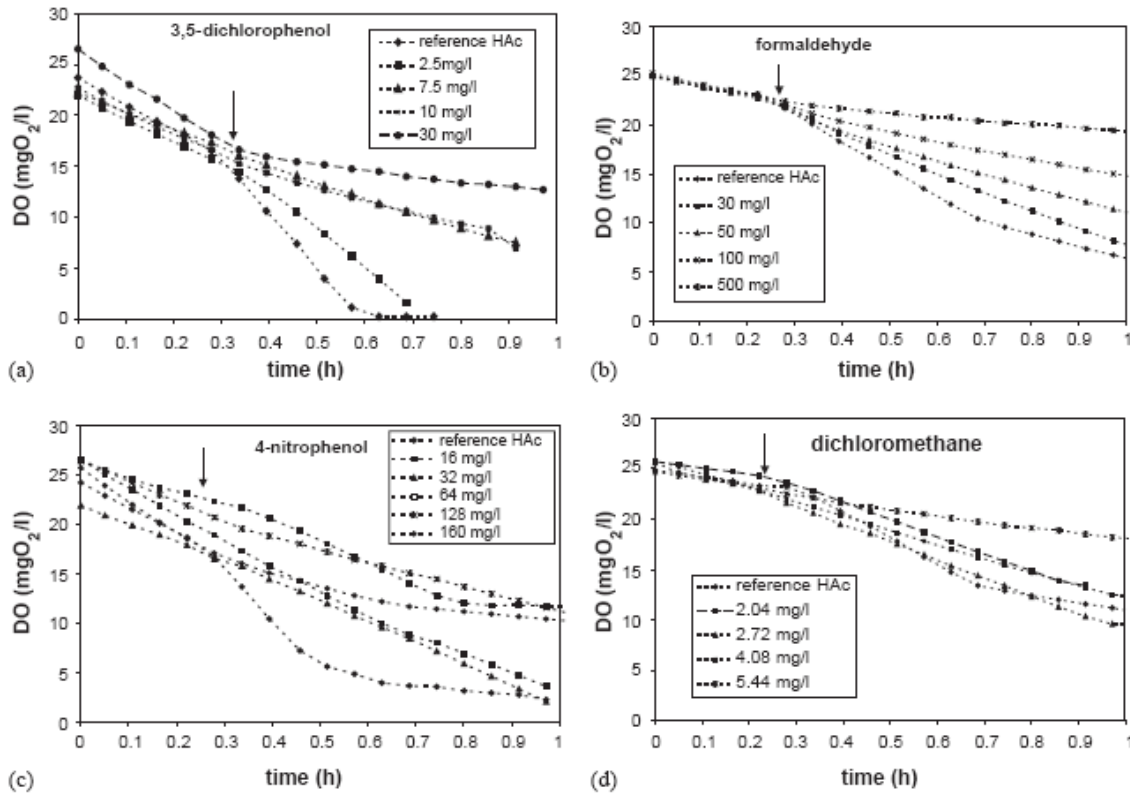


Figure I.3 : Profils de concentration en oxygène observés durant un cycle de mesure de la toxicité avec une augmentation de la concentration du toxique ; (a) : 3,5-dichlorophénol, (b) : formaldéhyde, (c) : 4-nitrophénol, (d) : dichlorométhane. La flèche indique le point d'ajout du substrat de référence et des toxiques (Rocco et al., 2004).

Les pourcentages d'inhibition ont permis de construire la courbe de pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration en toxique (Figure I.4). Les données expérimentales ont été interpolées pour évaluer l' EC_{50} . Ces valeurs sont représentées dans le Tableau I.2.

Tableau I.2 : Les valeurs des EC_{50} mesurées par respirométrie (Rocco et al., 2004).

Toxique	C_{50} moyenne ($mg.l^{-1}$)	Ecart type*	Variation (%)	Intervalle de confiance 97.5%
3,5-dichlorophénol	5.19	0.54	10.52	± 1.66
Formaldéhyde	62.69	6.40	10.21	± 19.47
4-nitrophénol (<i>p</i> -NP)	149.90	2.81	1.87	± 8.57
Dichlorométhane	2590	1.38	5.31	± 419

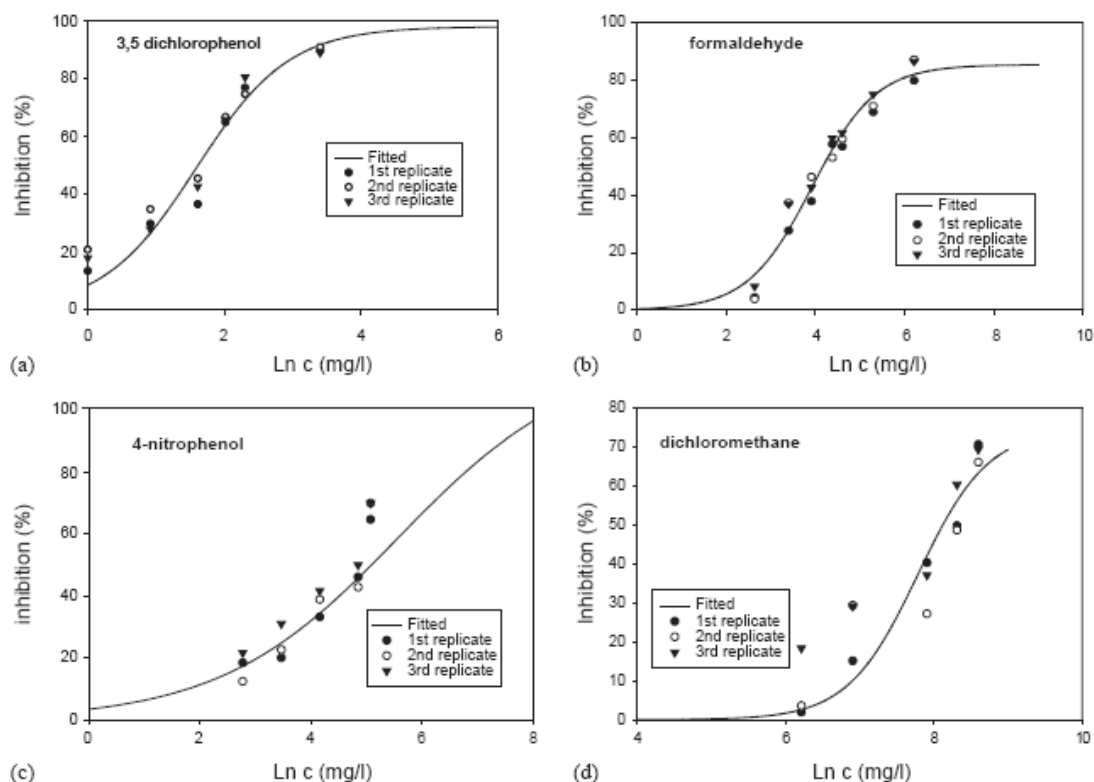


Figure I.4 : Courbes de pourcentage d'inhibition pour les quatre composés testés avec trois répétitions ; (a) : 3,5-dichlorophénol, (b) : formaldéhyde, (c) : 4-nitrophénol, (d) : dichlorométhane (Rocco et al., 2004).

Essai d'inhibition de la consommation d'oxygène par des boues activées : Méthode ISO 8192-1986

Cette norme internationale spécifie une méthode pour l'évaluation de l'effet inhibiteur du produit à expérimenter sur la consommation d'oxygène des micro-organismes de boues activées. Cet effet inhibiteur peut inclure les effets sur la respiration et la nitrification. La méthode fournit une indication sur les effets inhibiteurs ou stimulateurs après un court temps d'exposition (jusqu'à 180min) du produit à expérimenter sur les micro-organismes des boues activées. Dans cette norme deux méthodes d'application sont données :

- La méthode A : a pour but de reproduire les conditions des eaux de surface.
- La méthode B : a pour but de reproduire les conditions des installations de traitement biologique des eaux résiduaires.

Seule la méthode A permet de quantifier une inhibition par des composés volatiles.

- Comme pour la méthode OCDE 209 la réponse toxique est donnée sous forme d'IC₅₀ et le produit de référence utilisé est le 3,5dichlorophénol.

2.2.2.2. Comparaison des tests d'inhibition

Un test biologique est toujours caractérisé par 3 éléments : la substance, l'organisme et les conditions d'expositions.

Ce test peut avoir pour objectif de qualifier la substance et sa toxicité vis-à-vis d'autres molécules connues, et sur la base d'un test le plus standardisé possible (organisme et conditions d'exposition). Il s'agit notamment dans cette approche de pouvoir classer les molécules les unes par rapport aux autres. C'est pour cet objectif que les tests sur organisme spécifique sont à priori les plus pertinents (Microtox®, Daphnies).

D'après Valat, 2002, la sensibilité des tests biologiques dépend généralement :

- des fonctions d'acclimatation des microorganismes ;
- de la modification (physico-chimique) des solutions polluées testées par des composés chimiques présents dans le milieu de culture (Chlorure de sodium (NaCl) dans le cas de Microtox®) ;
- de la prédominance des micro-organismes les moins sensibles.

Dalzell et *al.*, (2002), ont effectué une comparaison de cinq méthodes d'évaluation de toxicité dans le but de caractériser la toxicité des polluants des boues activées. L'inhibition de la nitrification, la respirométrie (OCDE L 133/118 et ISO 8192), l'ATP luminescence, et l'inhibition enzymatique ont été examinés en utilisant les boues activées comme matrice d'essai. Le test de toxicité de *Vibrio fischeri* (Microtox ®) a été employé comme substitut pour comparer les divers tests biologiques microbiens. L'IC₅₀ a été déterminée pour un certain nombre de polluants comprenant les toxiques simples le Cd, le Cr, le Cu, le Zn, le 3,5-dichlorophénol, le toluène et l'alkylbenzènesulfonate linéaire (ASL); un mélange standard des métaux et du ASL; un mélange standard des produits organiques et du ASL, et 16 effluents industriels. Différents échantillons de boues activées ont été utilisés en fonction des substances examinées et des tests effectués. Des comparaisons de la sensibilité, du coût d'exécution, du coût par test, la pertinence, et la facilité d'utilisation ont été effectuées (Tableau I.3).

En fonction de ces critères avancés par Valat, 2002 et les conclusions de Dalzell et al., 2002 résumées dans le Tableau I.3, le test Microtox® est le plus sensible des tests mais il présente des variations de la sensibilité suivant les composés chimiques testés. L'inhibition enzymatique montre une faible sensibilité aux composés toxiques testés. L'ATP luminescence est une technique sensible et rapide mais coûteuse. L'inhibition de la nitrification est une technique sensible à la majorité des composés cibles mais le temps d'expérience est relativement long. Malgré un coût d'investissement relativement élevé et une moins bonne sensibilité comparée au test *V. fischeri* (Microtox®), la respirométrie présente le plus faible coût par test et reste plus appropriée pour les procédés de traitement biologiques des eaux usées.

Dans tous les cas, on peut s'intéresser à la question de la précision, la sensibilité, la reproductibilité, la robustesse de chaque test indépendamment pour une molécule donnée. On pourra aussi s'intéresser à la comparaison de chaque test pour une même molécule.

Ce test peut aussi avoir pour objectif de qualifier la toxicité de la substance vis-à-vis d'un consortium bien particulier comme par exemple une boue d'une station d'épuration. Dans ce cas, le test permet de caractériser le consortium microbien et sa sensibilité particulière au toxique. Les conditions d'exposition deviennent alors très importantes car elles vont conditionner le niveau d'extrapolation du résultat obtenu.

En effet, Ricco et al., (2004) ont aussi évalué les valeurs des EC₅₀ du 3,5-dichlorophénol, du formaldéhyde, du 4-nitrophénol et du dichlorométhane, à l'aide du test Microtox®. Ces valeurs sont consignées dans le Tableau I.4. Comparées aux valeurs trouvées avec les essais respirométriques selon la méthode 209 de l'OCDE (Tableau I.2), les EC₅₀ des trois premiers composés sont plus faibles que celles déterminées par respirométrie. Par contre le dichlorométhane semble moins toxique lorsqu'il est évalué à l'aide du test Microtox®.

D'autres études comparatives ont été effectuées (Dutka et al., 1983 ; Klecka et al., 1985 ; Yoshioka et al., 1986 ; Ren, 2004 ; Lapertot et Pulgarin, 2006...). Elles montrent que globalement, les tests respirométriques réalisés sur une biomasse diversifiée donne des valeurs d'EC₅₀ plus élevées pour la plupart des molécules que les tests d'inhibition effectués avec des micro-organismes spécifiques (Microtox®, Daphnies). Il est clair qu'un consortium bactérien diversifié (utilisé pour les essais respirométriques par exemple des boues de station d'épuration) présente une robustesse plus grande qu'une espèce unique.

Tableau I.3 : Comparaison des tests de toxicité rapide (Dalzell et al., 2002)

Paramètre	Inhibition de la nitrification	Respirométrie	ATP luminescence	<i>V. fischeri</i> (Microtox®)	Inhibition enzymatique
Temps de mesure (h)	4	4	2.5	1.75	2.5
Coût d'investissement (€)	921	27045	39834	17612	5113
Coût par test (€)	139	22	120	49	30
Rang de sensibilité ¹	2.66	3.20	3.24	1.64	4.26
Proportion de tests montrant la plus grande sensibilité (%)	24	12	8	56	0
Approprié pour les procédés de traitement des eaux usées	oui	oui	oui	non	Oui
Facilité d'utilisation	oui	oui	oui	oui	Oui

Tableau I.4 : Valeurs des EC₅₀ déterminées par Microtox® (Ricco et al., 2004)

Toxique	EC ₅₀ (à 30min) moyenne (mg.l ⁻¹)	SD*	CV** (%)	Intervalle de confiance 97.5%
3,5-dichlorophénol	3.5	0.52	15.11	±1.58
Formaldéhyde	8.1	0.63	7.80	±1.91
4-nitrophénol	8.76	0.52	6.03	±1.61
Dichlorométhane	3500	500	14.28	±1520

¹ Chaque test a été classé suivant un score de 1 à 5, le score 1 donné pour le test le plus sensible et 5 pour le test le moins sensible. En suite chaque score a été divisé par le nombre de composés testés.

2.2.3. Cinétiques d'inhibition microbienne et formalisme

Les modèles d'inhibition utilisés pour les procédés biologiques peuvent être classés en trois catégories (Pavlostathis and Giraldo-Gomez 1991) : empiriques, de type Monod avec des constantes biocinétiques ajustables, et les modèles à coefficient d'inhibition. Les modèles à coefficient d'inhibition sont basés sur le formalisme de Monod auquel un facteur de correction de l'inhibition a été incorporé (Cervantes et *al.*, 2006).

2.2.3.1. Inhibition enzymatique par une molécule autre que le substrat

La plupart des réactions métaboliques sont catalysées par des enzymes. Ces enzymes peuvent être désactivées de manière irréversible par des agents de dénaturation des protéines (chaleur, $\text{pH} < \text{pH isoélectrique}$...) ou par l'action de produits non spécifiques tels que les réactifs chimiques. Les enzymes peuvent aussi être inhibées par la liaison non-covalente des inhibiteurs, ce genre de réaction entraîne la perturbation ou l'arrêt de la réaction. Dans ce cas, l'inhibition peut être levée dans des conditions réactionnelles particulières. Les agents inhibiteurs sont classés en trois groupes selon leur mode d'action.

- Si un inhibiteur se lie à l'enzyme au site actif et empêche ainsi que le substrat s'y lie, on dit que le substrat et l'inhibiteur sont en compétition pour le site actif : l'inhibition et l'inhibiteur sont de type **compétitif**.

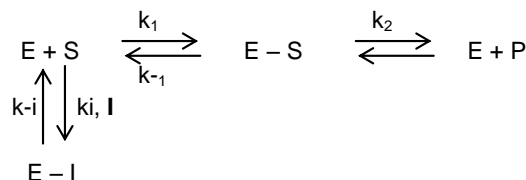


Figure I.5 : Schéma général de la transformation enzymatique d'un substrat en un produit en présence d'un inhibiteur compétitif

- Si un inhibiteur se lie au complexe enzyme-substrat, et non à l'enzyme libre, il s'agit du contraire de l'inhibition compétitive, appelée : inhibition **incompétitive**.

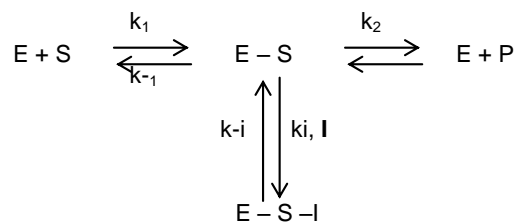


Figure I.6 : Schéma général de la transformation enzymatique d'un substrat en un produit en présence d'un inhibiteur incompétitif

- Si un inhibiteur se lie à l'enzyme et au complexe enzyme-substrat, on peut observer une troisième forme d'inhibition réversible : celle de type **non-compétitif**. L'inhibition non-compétitive représente une combinaison de l'inhibition compétitive et de l'inhibition incompétitive.

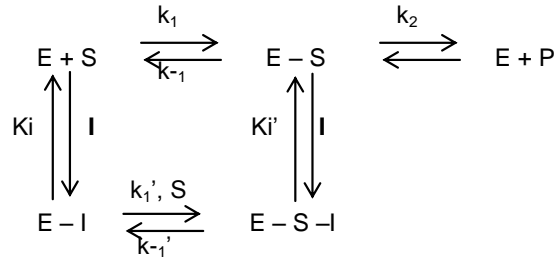


Figure I.7 : Schéma général de la transformation enzymatique d'un substrat en un produit en présence d'un inhibiteur non-compétitif

On caractérisera chaque type d'inhibiteur par l'expression de la vitesse de consommation du substrat qui lui correspond, son IC_{50} (Tableau I.5), et son action sur les paramètres cinétiques : K_M et V_{max} de l'équation de Michaelis-Menten (Tableau I.6).

Tableau I.5 : Expression de la vitesse de consommation du substrat et de l' IC_{50} de chaque type d'inhibiteur enzymatique

Type d'inhibition	Compétitive	incompétitive	Non-compétitive
Modèle	$V = \frac{V_{max} S}{S + K_M \left(1 + \frac{I}{K_i} \right)}$	$V = \frac{\frac{V_{max} S}{1 + \frac{I}{K_i}}}{S + \frac{K_M}{1 + \frac{I}{K_i}}}$	$V = \frac{V_{max} S}{S + K_M \left(1 + \frac{I}{K_i} \right)}$
IC_{50}	$IC_{50} = \frac{K_i}{K_M} S + K_i$	$IC_{50} = K_i + \frac{K_i K_M}{S}$	$IC_{50} = K_i$

Tableau I.6 : Action de chacun des modes d'inhibition sur les paramètres cinétiques K_M et V_{max}

	Type d'inhibition	Effet sur V_{max}	Effet sur K_M
$K_i = K_i'$	Non-compétitif simple	↓	-
$K_i \gg 1$	Incompétitif	↓	↓
$K_i' \gg 1$	Compétitif	-	↑
$K_i > K_i'$	Mixte	↓	↓
$K_i < K_i'$	Mixte	↓	↑

Les cinétiques présentées ci-dessus décrivent donc les réactions réversibles d'enzymes Michaéliennes lors d'une compétition entre le substrat et un inhibiteur. Ces modèles peuvent être extrapolés aux cinétiques microbiennes.

2.2.3.2. Inhibition par le substrat

Jusqu'à présent, les modèles faisaient relativement peu attention au mécanisme d'élimination du substrat, ou simulaient la partie la plus importante du modèle montrant la réponse microbienne au substrat. Très souvent des variantes du modèle de Monod ont été utilisées ; cependant, dans le domaine des bioprocédés, plusieurs modèles montrant une dépendance « inhabituelle » de la concentration en substrat, ont été considérés pour des situations spécifiques.

L'inhibition par le substrat est un phénomène fréquemment observé et la littérature montre de nombreuses tentatives de modélisation de ce phénomène. Plusieurs modèles mathématiques ont été développés pour mesurer l'effet inhibiteur du substrat sur le taux de croissance spécifique des cultures et ces modèles sont généralement des adaptations des équations pour l'inhibition par le substrat des réactions enzymatiques. Il y a toutefois, plusieurs variables incluses : type de culture, type de comportement des substrats, milieu réactionnel...

Certains de ces modèles conceptuels peuvent être utilisés pour des boues activées traitant des eaux usées industrielles, sachant que le substrat est souvent dégradé par des cinétiques différentes de celles prédites par le modèle de Monod, probablement à cause des différents types d'inhibition (Rezouga et *al.*, 2002).

Mulchandani et Luong (1989) et Meriç et Tünay (1998) ont revu les approches de l'inhibition par le substrat.

L'inhibition par le substrat est un cas particulier de l'inhibition incompétitive où l'inhibiteur est la même substance que le substrat. Dans ce cas, pour $I=S$ l'équation présentée dans le Tableau I.5, conduit à l'équation de Haldane (1930), qui représente le premier et le plus utilisé des modèles :

$$V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \frac{S}{K_i}} \quad \text{Équation I.2}$$

Où K_i est la constante d'inhibition de substrat. En raison de sa signification, cette constante a été largement adoptée par la plupart des chercheurs.

Lorsque la concentration en substrat augmente, la valeur de V augmente, mais lorsque la concentration critique I^* est atteinte, V diminue avec, plutôt une augmentation de I .

A $S=S^*$, $dV/dS=0$, ce qui conduit au résultat décrit ci-dessous, basé sur l'Équation I.2 :

$$S^* = \sqrt{K_s \cdot K_i} \quad \text{Équation I.3}$$

Une extension du modèle d'inhibition de Haldane a été proposée pour donner lieu au modèle généralisé de Haldane pour l'inhibition incompétitive de substrat.

$$V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \left(\frac{S}{K_i}\right)^n} \quad \text{Équation I.4}$$

Où n est une constante qui détermine l'ordre de l'inhibition. Lorsque $n=1$ l'Équation I.4 est réduite à un modèle de Haldane et lorsque $n=0$, l'Équation I.4 donne lieu au modèle de Monod.

Contois, 1959, a proposé un autre modèle qui est fonction de la concentration en substrat et de la concentration en biomasse :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_c \cdot X + S}$$

Équation I.5

Où K_c est une constante.

Dans l'état de l'art dressé par Tanyolaç et *al.*, (2001), sur l'inhibition par le substrat, on trouve qu'en 1970, Edwards a proposé ce couple d'équations (Équation I.6, Équation I.7) pour l'inhibition par le substrat. Cependant, il a constaté que son modèle n'a pas montré un meilleur résultat par rapport au modèle de Haldane (Mulchandani et Luong, 1989) :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S \left(1 + \frac{S}{K}\right)}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}}$$

Équation I.6

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_s + S + \left(\frac{S^2}{K_i}\right) \left(1 + \frac{S}{K}\right)}$$

Équation I.7

Cependant, ce type de modèle n'implique pas d'inhibition complète puisqu'en réalité il y a un certain niveau de substrat au-dessus duquel la croissance cessera totalement.

Edwards, 1970 a également suggéré que la relation exponentielle proposée par Aiba et *al.* (1968), pour décrire l'inhibition par le produit pourrait être employée pour décrire l'inhibition par le substrat comme le montre l'Équation I.8 :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} e^{-S/K_i}$$

Équation I.8

Cette équation ne prévoit non plus la concentration maximum en substrat à laquelle la croissance sera complètement inhibée. Quand $S/K_i \ll 1$, l'Équation I.8 devient équivalente à l'Équation I.2 et, les deux équations s'approchent de l'Équation I.9 suite à une transformation à l'aide d'une série de Taylor.

$$\mu \approx \mu_{\max} \cdot \frac{S}{K_s + S} \left(1 - \frac{S}{K_i}\right) \quad \text{Équation I.9}$$

En se basant sur l'Équation I.9, Luong (1987) a proposé une équation non linéaire généralisée avec puissance pour l'inhibition par le substrat utilisée auparavant par Levenspiel (1980) pour l'inhibition par le produit.

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{S + K_s} \left(1 - \frac{S}{S_m}\right)^n \quad \text{Équation I.10}$$

Où S_m est la concentration maximum en substrat au-dessus de laquelle la croissance est complètement inhibée.

Le modèle proposé par Luong (1987) tel que présenté par l'Équation I.10 semble être utile pour représenter la cinétique de l'inhibition de substrat. Bien que le modèle proposé soit de type Monod généralisé, toutefois il est capable de prendre en compte la stimulation de substrat à des concentrations aussi bien faibles qu'élevées. Ce modèle a la capacité de prédire les valeurs de S_m .

L'hypothèse de l'ajout commandé par la diffusion du substrat conduit à l'Équation I.11, introduite initialement par Tessier, (1942).

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \left(1 - e^{-S/K_s}\right) \quad \text{Équation I.11}$$

Combinant ce mécanisme avec une limitation diffusionnelle "protectrice" des concentrations élevées et inhibitrices, Edwards (1970) a proposé le modèle suivant pour les corrélés avec la croissance microbienne :

$$\mu = \mu_{\max} \left[\exp\left(-\frac{S}{K_i}\right) - \exp\left(-\frac{S}{K_s}\right) \right] \quad \text{Équation I.12}$$

Encore une fois le modèle décrit par l'Équation I.12, ne prévoit pas la concentration théorique limitant l'inhibition, niveau à partir duquel la croissance ne peut plus se produire,

puisque excepté la limite inférieure de $S \approx 0$, μ s'annule uniquement lorsque la concentration en S est très grande.

Yano et Koga (1969) ont proposé un modèle, basé sur une étude théorique du comportement dynamique de la fermentation continue soumise à une inhibition de la croissance à une forte concentration du substrat limitant (Équation I.13).

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \frac{K_s}{S} + \sum_{j=1}^n \left(\frac{S}{K_i} \right)^j} \quad \text{Équation I.13}$$

Han et Levenspiel (1988) ont proposé le model (Équation I.14) pour exprimer le taux de dégradation de substrat. Ce modèle implique une fonction de retard, qui a une forme exponentielle et inclut la concentration critique de produit ou de substrat correspondant au point d'inflexion sur la croissance (Han et Levenspiel, 1988).

$$q = q_{\max} \left[1 - \left(\frac{S}{S_m} \right)^n \right] \left(\frac{S}{S + K_s - \left(1 - \frac{S}{S_m} \right)^m} \right) \quad \text{Équation I.14}$$

Où q est le taux spécifique de dégradation du substrat, q_{\max} est le taux spécifique maximum de dégradation du substrat, S_m est la concentration critique en inhibiteur au-dessus de laquelle les réactions s'arrêtent, et m et n sont des constantes empiriques.

Le modèle de Haldane (Andrews, 1968) demeure incontestablement, le modèle le plus utilisé lorsqu'il s'agit d'inhibition par le substrat. Toutefois, ce modèle présente des limites d'application puisque d'une part, lorsqu'il s'agit d'inhibiteur à caractère réfractaire, il ne permet pas d'atteindre la concentration critique S^* en substrat au delà de laquelle l'inhibition est totale. D'autre part dans ce modèle, et la majorité des autres modèles présentés ci-dessus, l'inhibiteur constitue la seule source de carbone. Ce qui est difficilement concevable pour une dépollution des ERI présentant généralement une matrice multisubstrat pour la biomasse épuratrice, dans les procédés de traitement biologiques. Il serait donc plus réaliste de considérer l'agent inhibiteur étudié comme étant une fraction d'un mélange de substrat pour les boues.

Les modèles décrivant une inhibition par une molécule autre que le substrat, telle que le produit par exemple, dérivent généralement des formalismes de l'inhibition enzymatique

(2.2.3.1). Ce sont des approximations empiriques puisqu'elles sont appliquées aux systèmes microbiens les plus compliquées. Toutefois, ces modèles ont besoin de la prédiction du comportement des systèmes enzymatiques pour l'élimination, simultanée ou successive, du substrat, et de l'inhibiteur. L'inhibition par le produit est décrite dans l'annexe 3.

3. Traitement des molécules toxiques dérivées du phénol et problématique de l'acclimatation

Le phénol et ses dérivés sont des composés largement utilisés dans la fabrication de divers produits chimiques pétrochimique, pharmaceutiques et agricoles tels que les colorants, les adhésifs, les plastiques, les pesticides, les germicides.... Le phénol est un intermédiaire dans la synthèse industrielle de bisphénol A, de caprolactame, d'alkylphénols, de chlorophénols, de nitrophénols. Il est aussi produit naturellement, lors du métabolisme animal et humain ou encore lors de la dégradation de la lignine (Bugg et Winfield, 1998). Pour ces raisons, le phénol et ses dérivés se trouvent parmi les polluants les plus communs dans les eaux résiduaires industrielles.

Les phénols sont des substances toxiques dangereuses, leur présence dans l'environnement pose un risque significatif même à de faibles concentrations. Ils peuvent être éliminés de l'environnement et des effluents industriels par des méthodes physico-chimiques telles que l'ozonation, l'adsorption au charbon actif, l'oxydation chimique, le réactif de Fenton, le peroxyde UV ou d'hydrogène, l'osmose inverse ; l'échange d'ions, la coagulation-précipitation, l'électrodialyse (Sakurai et *al.*, 2003 ; Gogate et Pandit, 2004 ; Gupta et *al.*, 2004), qui présentent des limites car elles sont habituellement complexes et chers (Contreras et *al.*, 2008) et produisent des composés finaux dangereux (Bamforth et Singleton, 2005). Le traitement biologique s'avère être plus économique et constitue l'approche la plus prometteuse et la plus souple, car il conduit à la minéralisation complète des phénols (Tsioulpas et *al.*, 2002).

La dégradation microbienne des phénols, principalement par des bactéries et des champignons, a été largement étudiée, expérimentalement et théoriquement (Bamforth et Singleton, 2005). Bien que les micro-organismes aérobies et anaérobies puissent dégrader le phénol, les procédés aérobies sont privilégiés (Contreras et *al.*, 2008). Les mécanismes de biodégradation, procaryotes et eucaryotes, exigent la présence de l'oxygène moléculaire pour l'attaque enzymatique des anneaux aromatiques (Gibson et *al.*, 1967 ; Cerniglia, 1992 ; Semple et Cain, 1996 ; Semple et *al.*, 1999). L'hydroxylation du noyau benzénique pour

former le catéchol et ensuite son clivage par *ortho*- ou *mé*ta-oxydation est une voie typique pour métaboliser le phénol (Semple et al., 1999 ; Ellis et al., 2006).

Plusieurs études ont prouvé que le phénol peut être dégradé en conditions aérobies par une grande variété de micro-organismes, y compris les cultures bactériennes pures telles que : *Acinetobacter calcoaceticus* (Paller et al. 1995), *Alcaligenes eutrophus* (Hughes et al. 1984 ; Léonard et Lindley, 1998), *Bacillus stearothermophilus* (Buswell, 1975), *Burkholderia cepacia* G4 (Folsom et al. 1990 ; Müller, 1994 ; Solomon et al. 1994 ; Schröder et al. 1997), *Nocardia* sp. (Rizzuti et al. 1979), *Nocardioides* sp. (Cho et al. 2000), *Pseudomonas pickettii* (Fava et al. 1995), *Pseudomonas putida* (Feist et Hegeman, 1969 ; Hill et Robinson, 1975 ; Yang et Humphrey, 1975 ; Bettmann et Rehm, 1984 ; Sokó, 1987 & 1988 ; Hinteregger et al. 1992 ; Götz et Reuss, 1997 ; ...), *Pseudomonas resinovorans* (Dikshitulu et al. 1993), *Ralstonia eutropha* (Léonard et al. 1999) and *Rhodococcus* sp. (Straube, 1987).

Certaines levures sont également capables de dégrader du phénol telles que : *Candida* spp. (Hofmann et Krüger, 1985 ; Krug et Straube 1986 ; Neujahr et al. 1974), *Fusarium* sp. (Anselmo et al. 1985) et *Trichosporon cutaneum* (Neujahr et Gaal, 1973 ; Gaal et Neujahr, 1979 ; Spånning et Neujahr, 1987).

Différentes auteurs ont étudié la biodégradation du phénol par des cultures mixtes (Pawlowsky et Howell, 1973 ; Mörsen et Rehm, 1990 ; Farrell et Quilty, 1999).

3.1. Études de la biodégradation du *para*-nitrophénol

Le 4-nitrophénol (*p*-NP) est un xénobiotique largement répandu dans la nature et suscite l'intérêt des organisations internationales de santé publique et de protection de l'environnement telles que l'OCDE (Organisation de Coopération et de Développement Economiques) et l'APE (Agence de Protection de l'Environnement des Etats-Unis) (1980) qui le classent parmi les molécules prioritaires. Ses caractéristiques physico-chimiques sont détaillées dans le Tableau I.7. Le *p*-NP est utilisé par les industries de cuir en tant que fongicide et fongistatique. C'est un intermédiaire dans la synthèse d'un certain nombre d'insecticides organophosphorés et de composés à usage médical ; il est aussi très employé dans les produits utilisés par les militaires : protection du matériel en cuir des soldats, traitement du liège isolant pour les équipements de l'armée de l'air... Par conséquent, il est possible qu'un tel composé chimique contamine les sols traités par les insecticides et les pesticides ainsi que les cours d'eau, récepteurs des ERI.

Tableau I.7 : Caractéristiques physico-chimique du *p*-NP

Nom commun :.....	Phénol, 4-nitrophénol
Nom chimique :.....	<i>p</i> -nitrophénol
Famille chimique :.....	nitrobenzène
Formule chimique :.....	C ₆ H ₅ NO ₃
Nom commercial :.....	<i>p</i> -NP
Etat physique à température ambiante :.....	Solide/ cristaux
Couleur :.....	Jaune/ marron
pH :.....	4.4 (solution à 5g/l)
Point de fusion :.....	114°C à 760 mmHg
Point d'ébullition :.....	279 °C à 760 mmHg
Solubilité :.....	16 g/l
pKa	7.16
Constante de la loi d'Henry (H°_{PNP})	2.5 10 ⁻⁵ atm. m ³ /mol

En outre, le *p*-NP est un découplant² métabolique (ou énergétique), qui dissocie l'accouplement de l'énergie entre le catabolisme et l'anabolisme, induisant la dissipation d'une partie de cette énergie pendant les cycles futiles, ce qui présente de hautes potentialités pour réduire l'excès de production de boues (EPA, 1980; Low et Chase, 1998; Wei et *al.*, 2003).

Comme la plupart des composés phénolés, le *p*-NP peut être éliminé des ERI par traitement biologique, tel que le procédé à boues activées, qui présente une grande flexibilité et une capacité significative d'adaptation. Cependant quand l'effluent industriel contient une telle molécule, une grande variabilité de la concentration est souvent observée comme conséquence des campagnes discontinues de production. Les agents chimiques dérivés du phénol, comme le *p*-NP, causent l'inhibition et par conséquent leur biodégradation dépend du taux dynamique d'acclimatation des micro-organismes en fonction de la dynamique de changement des caractéristiques de l'effluent (Gemini et *al.*, 2005). Afin de prédire les taux de dégradation des phénols dans le processus de boues activées, beaucoup d'auteurs ont tenté de modéliser l'inhibition. Cependant, peu d'entre eux ont mesuré les changements

² Il agit au niveau de la chaîne respiratoire en découplant les réactions de phosphorylation oxydative. Ils empêchent le couplage entre la production d'énergie par les oxydations cellulaires et le stockage sous forme d'ATP. L'énergie libérée non stockée sous forme d'ATP est dégradée en chaleur qui déborde les mécanismes de thermorégulation.

dynamiques des paramètres cinétiques dus à l'acclimatation des boues, bien que ce phénomène joue un rôle crucial pour les performances des procédés à boues activées (Carvalho *et al.*, 2001; Chong *et al.*, 2008).

Les espèces telles que le *Bacillus sphaericus* (Kadiyala *et al.*, 1998), *Pseudomonas putida* (Kulkarni et Chaudhari, 2006) *Rhodococcus wratislaviensis* (Gemini *et al.*, 2005) sont capables de dégrader le *p*-NP.

Certaines espèces microbiennes (*Arthrobacter* JS443 et un *Moraxella*) sont capables de se développer sur du *p*-NP comme seul source de carbone (Gleason et Baxa, 1986). Tomei *et al.*, (2006) ont aussi isolé un coccobacille gram négatif, du genre *Ralstonia* parmi les β -protéobactéries, capable se développer en aérobie sur du *p*-NP comme unique source de carbone dans la gamme de 80 - 320 mg.l⁻¹. Ce qui prouve la biodégradabilité du *p*-NP et confirme l'inhibition par le substrat de l'activité des micro-organismes en fonction des conditions de culture.

La Figure I.8 explique l'oxydation du *p*-NP selon deux possibilités, qui sont assez représentatives de ce qui s'observe sur ce type de substrat. C'est une oxygénase qui se charge de la première étape ; l'hydroxylation se fait à côté du groupe nitro ou à son niveau. Le résultat est le *p*-benzoquinone ou le 4-nitrocatéchol. Une figure explique l'oxydation du *p*-NP selon ces deux possibilités, car elles sont assez représentatives de ce qui s'observe sur ce type de substrat (Pelmont, 2005).

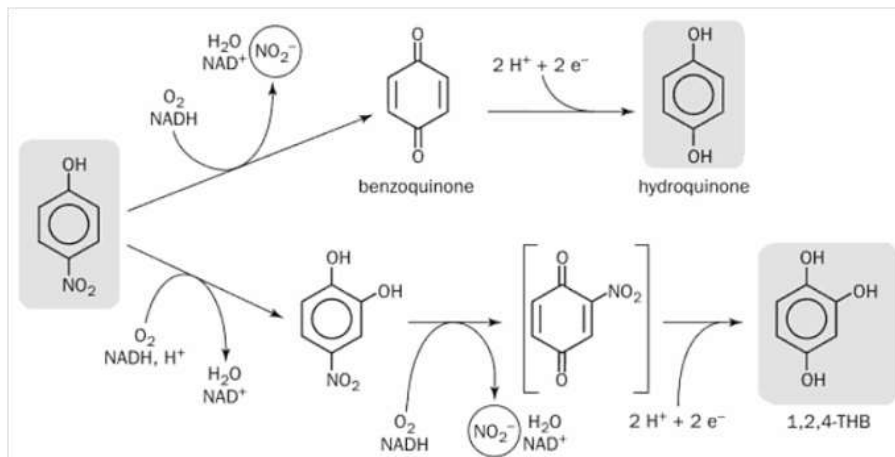


Figure I.8 : Oxydation du *p*-nitrophénol

La biocinétique de dégradation du *p*-NP par des populations microbiennes mixtes cultivées dans des procédés à boues activées a également été étudiée (Dang *et al.*, 1989 ; Ray *et al.*, 1999 ; Xing *et al.*, 1999 ; Bhatti *et al.*, 2002 ; Tomei *et al.*, 2003 ; Tomei *et al.*, 2004, Rezouga *et al.*, 2009...). Considérant la cinétique de Haldane, ces auteurs ont

rapporté des valeurs du coefficient d'inhibition $K_{i,IHO}$, entre 12 et 289 mgDCO.l⁻¹, du coefficient de demi saturation $K_{S,Inh,IHO}$ values de 1 à 20 mgDCO.l⁻¹, du taux spécifique de croissance maximale $\mu_{IHO,max}$ variant de 2.2 à 10.1 j⁻¹, et du rendement de conversion allant de 0.19 à 0.63 mgCOD_X.mgCOD_{PNP}⁻¹. L'une des principales explications pour cette grande variabilité dans les évaluations des paramètres est la variabilité dans l'histoire de biomasse (Grady *et al*, 1996). Le changement des conditions de culture (taux de dilution, rapport de l'alimentation au de micro-organismes, présence ou manque d'un substrat facilement biodégradable) conduit aussi bien à de divers états métaboliques qu'à un nombre variable d'organismes acclimatés dans la population globale.

3.2. Étude du phénomène d'acclimatation

Les micro-organismes ont un pouvoir d'adaptation considérable dont l'une des manifestations concerne les agents inhibiteurs. Ainsi, les inhibiteurs n'ont pas une activité identique sur les micro-organismes, certains sont sensibles, et d'autres résistants à leur action. Les réponses sont déterminées dans des conditions précises concernant les paramètres qui interviennent sur l'activité propre de ces produits. Parmi ces conditions, le pH, la température, la présence de substances organiques ou d'ions, le mode de croissance des micro-organismes. L'acclimatation des micro-organismes aux composés chimiques organiques est une étape cruciale dans le processus de biodégradation, essentiellement lorsqu'il s'agit de composés considérés comme difficilement biodégradables (Rezouga *et al.*, 2002).

La minéralisation de beaucoup de composés organiques dans les différents environnements est précédée par une période d'acclimatation. On appelle phase ou période d'acclimatation : l'intervalle de temps pendant lequel la biodégradation d'une molécule n'est pas détectée. En d'autres termes c'est l'intervalle de temps séparant le moment où le composé en question est présenté à la biomasse, et le début de sa minéralisation discernable. Dans les communautés microbiennes aérobies, les périodes d'acclimatation durent plusieurs heures à plusieurs jours (Wiggings *et al.*, 1987). Cette phase d'acclimatation a pour but l'adaptation ou l'acclimatation d'une certaine biomasse qui se définit fonctionnellement par l'augmentation du taux de dégradation de ce composé.

Il est important de remarquer que cette période d'acclimatation ne reflète pas nécessairement l'absence de métabolisme, quand la concentration de la molécule en question reste sensiblement constante (moyennant l'erreur analytique). En effet il faut disposer de méthodes analytiques de dosages performantes pouvant estimer une

concentration de 95% à 100% dans le milieu. Il faut, en outre, être capable de quantifier l'apparition de nouveaux composés en très faible pourcentage.

Un certain nombre de mécanismes, qui nécessitent un certain temps d'exécution, pourraient être à l'origine de cette période d'acclimatation :

- L'induction enzymatique (Torstensson et *al.*, 1975 ; Stephenson et *al.*, 1984). Les enzymes microbiennes peuvent être constitutives (essentiels et toujours présentes) ou inducibles (nécessitent la présence de substrat spécifique pour induire la synthèse) ;
- Activation de voies biochimiques alternatives (Nies, 1992).
- La mise en place de la mutation ou de l'échange génétique (Walker et Newman, 1956 ; Schmidt et *al.*, 1983) ;
- La diauxie lors de la présence d'un substrat multiple (Kuiper et Hanstveit 1984). Ce phénomène se produit lorsque le milieu contient deux sources de carbone ou plus. L'une de celles-ci est dégradée préférentiellement à une autre. La source de carbone qui permet la croissance la plus rapide est métabolisée en 1^{er}, puis la 2^{nde} source de carbone ; produisant ainsi deux périodes de croissance exponentielle (croissance biphasique) ;
- la croissance sélective au sein de la culture d'une population de micro-organismes capables de métaboliser en présence de substances toxiques (Ventullo and Larson, 1986 ; Spain et *al.*, 1980 ; Roš, 1993). La toxicité de certains composés inhibe la croissance des bactéries qui le dégradent. La période d'acclimatation dans ce cas, peut refléter le temps nécessaire pour une espèce autre que celle concernée pour dégrader le même toxique ;
- L'apport insuffisant en substrats inorganiques (Vashon et *al.*, 1982 ; Lewis et *al.*, 1986) ;
- L'utilisation préférentielle d'autres composés organiques avant le composé chimique en question (Kuiper et Hanstveit 1984 ; Lewis et *al.*, 1986) ;
- La neutralisation de la substance toxique par l'activité biologique des micro-organismes (Roš, 1993) ;
- La prédation des protozoaires pour les organismes minéralisateurs (Wiggings et *al.*, 1987).

Wiggings et al. (1987) ont discuté la majorité des hypothèses annoncées ci-dessus et suggèrent, de manière exclusive, que la période d'acclimatation dans les environnements aquatiques est souvent le reflet du temps nécessaire aux petites populations de micro-organismes, capables de minéraliser le composé chimique en question, pour atteindre les densités cellulaires élevées nécessaires pour la minéralisation discernable. Cependant, ils mettent l'accent sur les contraintes qui pourraient empêcher ces micro-organismes de

proliférer aisément telles que la prédation des protozoaires où le manque d'éléments inorganiques nécessaires à leurs métabolismes de base.

Lors des périodes d'acclimatation, pour pouvoir s'adapter à leur environnement, les micro-organismes peuvent exprimer une résistance aux agents inhibiteurs voire toxiques. On distingue deux types de résistances microbiennes (Rezouga et al., 2002) :

- **Résistance intrinsèque :**

Elle est immuable à de très rares exceptions près (mutants devenant sensibles). C'est une résistance innée des cellules, appartenant à une espèce microbienne ou à un groupe d'espèces. Elle est donc prévisible. La résistance intrinsèque de la cellule bactérienne apparaît corrélée au type de structure externe de cette cellule. Généralement, la présence d'une enveloppe externe (bactérie à Gram négatif) ou d'une couche de cire (mycobactéries) l'augmentent significativement. Dans un même groupe structural, les variations peuvent être importantes.

- **Résistance acquise :**

La sensibilité acquise est due à un événement imprévisible, qui au sein d'une espèce microbienne de sensibilité homogène à un antimicrobien, a pour conséquence l'apparition d'une souche (ou de quelques souches) de cette espèce, ayant une sensibilité diminuée. La résistance acquise aux antimicrobiens, est due à des variations génétiques se produisant chez de rares souches dans une population microbienne, constituée d'une même espèce. Les variations se traduisant par des modifications de la cellule qui ont pour conséquence la diminution de la sensibilité. La résistance acquise est donc la résultante d'un mécanisme biochimique et d'un mécanisme génétique ayant pour origine, soit le noyau de la cellule (résistance acquise chromosomique), soit un plasmide (résistance acquise extra-chromosomique ou plasmidique). Ces deux mécanismes sont liés et complémentaires car l'environnement génétique est indispensable, et la modification biochimique qui en résulte diminue l'intensité et la spécificité de la résistance.

Etant, la plupart du temps, acquise, cette résistance peut être perdue de diverses manières. Par conséquent, la capacité des boues activées à dégrader des xénobiotiques peut changer à différentes périodes et conditions. Chong et al., 2008; ont étudié la désacclimatation de boues actives ayant été acclimatées au 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D), en présence d'un substrat biogénique, après une période de carence.

Dans un procédé à boues activées alimenté en continu, Chong et al. (2008) ont observé de faibles performances épuratrices lorsque le 2,4-D n'était pas présenté en continu pendant la période d'acclimatation. Cette perte de la capacité à dégrader le 2,4-D a été expliquée en présentant les facteurs suivants :

- Dilution physique par la croissance des boues sur le substrat biogénique ;
 - Acclimatation sélective au substrat biogénique ;
 - Déplacement des microorganismes acclimatés sous l'effet de l'application d'un temps de séjour des solides ;
 - Décès endogène de la biomasse acclimatée ;
 - Désacclimatation biochimique.
- Ils tirent donc la même conclusion que Xing et *al.*, (1999) ; Buitron et Monero, (2004) ; Tomei et Annesini., (2005) ; qu'un procédé à rétention de biomasse est plus efficace quant à la détoxification biologique des eaux usées.

3.3. Modélisation de l'acclimatation

Vu la complexité mécanistique de l'acclimatation d'une biomasse à la dégradation d'un xénobiotique, très peu d'approches ont été proposées dans la littérature pour modéliser ce phénomène. L'une des premières études publiées, a été celle de Carvalho et *al.*, 2001 ; 2002 ; 2004 qui ont étudié un procédé à boues activées soumis à une variation de la quantité d'un agent inhibiteur de type tensioactif, dans l'eau d'alimentation. Ils ont proposé un modèle de premier ordre décrivant les changements de la constante d'affinité K_s et de la constante d'inhibition K_i lors d'une période d'acclimatation. Un modèle dynamique (modèle de dégradation fractionnée FDM) a été initialement développé pour décrire la dégradation des agents tensioactifs par des boues activées non ioniques (Carvalho et *al.*, 2001). Ce modèle a été fondé sur l'hypothèse de trois fractions séquentiellement dégradées de DCO, où la deuxième fraction est un métabolite de la molécule originale et la troisième fraction est plus lentement un métabolite biodégradable résultant de la dégradation secondaire (Figure I.9).

Carvalho et *al.*, (2002) ont employé le FDM comme base pour un modèle d'acclimatation appliqué dans le but de prévoir la capacité d'exécution et de dégradation des boues pendant que celles-ci s'adaptent à un agent tensioactif non ionique différent.

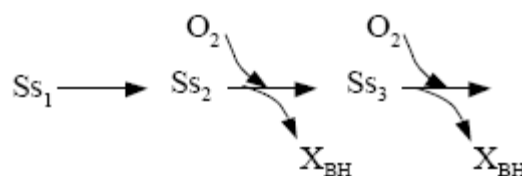


Figure I.9 : Différentes fraction de la DCO du tensioactif dont le modèle d'acclimatation a été développé par Carvalho et *al.*, 2001 ;2002 ;2004

$$\frac{dK_{s1}^{acc}}{dt} = a \cdot \frac{Ss_1}{b + Ss_1} \cdot (K_{s1m}^{acc} - K_{s1}^{acc}) K_{s1}^{acc} \quad \text{Équation I.15}$$

$$K_{s1} = K_{s1}^0 - K_{s1}^{acc} \quad \text{Équation I.16}$$

$$\frac{dK_I^{acc}}{dt} = c \cdot \frac{Ss_2}{d + Ss_2} \cdot (K_{Im}^{acc} - K_I^{acc}) \quad \text{Équation I.17}$$

$$K_I = K_I^0 + K_I^{acc} \quad \text{Équation I.18}$$

Où :

K_{s1}^0 , K_I^0 : constantes d'affinité constitutive et d'inhibition, relatives à des boues non acclimatées

K_{s1}^{acc} , K_I^{acc} : réduction de la constante d'affinité, et incrément de la constante d'inhibition, résultant de l'acclimatation.

a, c : constante du taux d'acclimatation pour K_{s1}^{acc} et K_I^{acc} .

b ; d : constantes d'affinité pour K_{s1}^{acc} et K_I^{acc} .

K_{s1m}^{acc} , K_{Im}^{acc} : valeur maximales de K_{s1}^{acc} et K_I^{acc} .

Le modèle d'acclimatation proposé consiste à ajouter ces équations afin de transformer K_{s1} et K_I en deux variables d'état. Les autres paramètres sont gardés constants. Ce modèle à pour objectif de prédire les réponses d'un procédé à boues activées et son état d'acclimatation, à un temps donné, après l'introduction du nouveau substrat dans le système. Ce procédé a été suivi dans le temps par les facteurs d'acclimatation k_{s1}^{acc} et K_I^{acc} (Figure I.10).

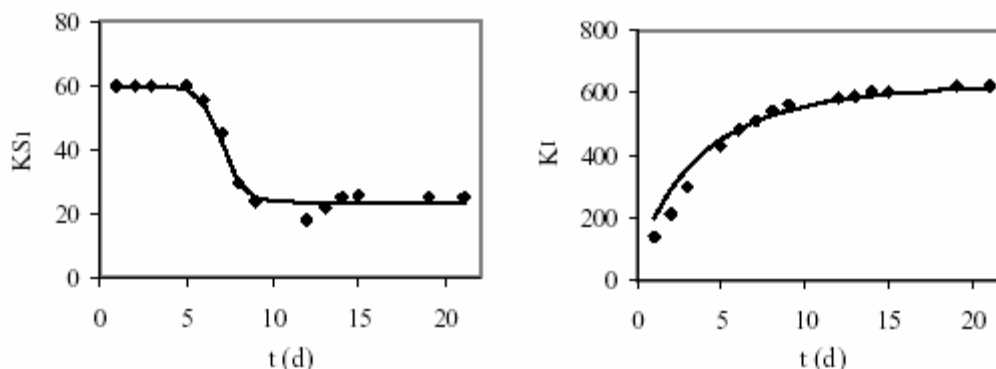


Figure I.10 : Valeurs expérimentales (●) et valeurs prédites par le modèle (-) de K_{s1} et K_I (Carvalho et al., 2004).

Inspiré des travaux de Vanrolleghem et *al.*, (1998), un paramètre de transition « Trans » a été introduit par Carvalho et *al.*, 2004, afin de justifier le phénomène initial de start-up de minéralisation du Brij30 (Équation I.19). Ils annoncent que quelques minutes sont probablement nécessaires pour l'homogénéisation de la solution et l'adaptation de la biomasse après l'injection du substrat. Ce terme a été uniquement appliqué à l'équation de la croissance associée à la deuxième fraction de DCO (Ss_2), puisqu'ils n'ont observé aucune croissance pendant la biodégradation de la première fraction (Ss_1). Cette croissance suit une cinétique de Haldane modifiée (Équation I.20).

$$Trans = 1 - \beta \cdot e^{-t/\tau}, \beta = 1 - \frac{K_{S_2} + Ss_2(0) + \frac{Ss_2(0)^2}{K_I}}{Ss_2(0) \cdot \mu_{max2}} \frac{rO_2(0) \cdot Y_{H_2}}{X_{BH}(0)(1 - Y_{H_2} - Y_{Ss3})}$$

Équation I.19

$$\mu_{H_2} = Trans \cdot \mu_{max2} \cdot \frac{Ss_2}{K_{S_2} + Ss_2 + \frac{Ss_2^2}{K_I}}$$

Équation I.20

Où :

 $rO_2(0)$: respiration endogène initiale ($mg \cdot l^{-1} \cdot min^{-1}$) $X_{OHO}(0)$: concentration initiale en biomasse hétérotrophe ($mgDCOD \cdot l^{-1}$) β : paramètre de transition t : temps d'analyse après injection de l'agent tensioactif (min) τ : constante de temps de transition (min) μ_{H_2} : taux spécifique de croissance pour le Ss_2 (min^{-1}) μ_{max2} : taux spécifique maximum de croissance pour le Ss_2 (min^{-1}) $Ss_2(0)$: concentration initiale des métabolites de l'agent tensioactif ($mgDCO \cdot l^{-1}$). Une valeur très faible (une approximation de 1% de $Ss_1(0)$ a été supposée). K_{S_2} : constante d'affinité des hétérotrophes pour Ss_2 ($mgDCO \cdot l^{-1}$) K_I : constante d'inhibition pour Ss_2 ($mgDCO \cdot l^{-1}$) Y_{Ss3} : rendement de conversion du Ss_2 en Ss_3 ($mgDCO \cdot mgDCO^{-1}$) Y_{H_2} : rendement de conversion de la biomasse hétérotrophe pour le Ss_2 ($mgDCO \cdot mgDCO^{-1}$).

L'originalité de cette approche réside dans le fait de s'appuyer sur le suivi des facteurs d'acclimatation (k_{s1}^{acc} et K_I^{acc}), afin de pouvoir prédire la caractérisation de l'état des boues à n'importe quel instant t du fonctionnement du procédé. Ce type de modèle présente toutefois, un inconvénient. En effet, sa mise en œuvre nécessite la connaissance des produits de dégradation intermédiaires de toutes les sources de carbone présentes dans l'effluent à traiter. Ceci n'est pas toujours possible, notamment lorsqu'il s'agit d'un cas réel de multisubstrat (ERI) contenant un mélange de xénobiotiques, dont les différentes fractions de DCO et leurs interactions ne sont pas toujours autifiabiles.

Chung et al., 2005, ont plutôt proposé un modèle ; basé sur le formalisme de Haldane ; à deux phases, pour pouvoir modéliser correctement le retard d'activité du à la phase d'acclimatation d'une culture en batch de *Pseudomonas putida* CCRC 14365 en présence de phénol.

Le modèle de Haldane (modèle à une phase) ne prévoit pas avec exactitude la biodégradation de phénol pendant le temps de latence. Afin de comparer l'applicabilité du modèle de Haldane, les auteurs ont présenté deux phases distinctes avec différents taux de croissance et différents rendements de conversion. Le modèle à deux phases, exige la connaissance de la variable de temps de latence, t_L , qui est déterminé à l'aide d'un régression exponentielle proportionnelle à la concentration initiale en phénol (S_0) ; et les rendements de conversion : Y_{XS}^{lag} (phase de latence), et Y_{XS}^{log} (phase log) qui sont déterminés expérimentalement. L'expression de la vitesse de production de biomasse est présentée comme suit :

$$\frac{dX}{dt} = \begin{cases} -1 \frac{\mu_{max}^{lag} \cdot S \cdot X}{Y_{XS}^{lag} K_S^{lag} + S + S^2 / K_I^{lag}}, & t < t_L \text{ (phase de retard)} \\ -1 \frac{\mu_{max}^{log} \cdot S \cdot X}{Y_{XS}^{log} K_S^{log} + S + S^2 / K_I^{lag}}, & t \geq t_L \text{ (phase log)} \end{cases} \quad \text{Équation I.21}$$

Les auteurs ont comparé le modèle de Haldane à une et à deux phases (Figure I.11 et Figure I.12). Certes le modèle à deux phases est capable de décrire correctement la période de latence pour toutes les concentrations considérées, puisqu'il s'agit là, de s'affranchir de toute interprétation mécanistique, et de résonner sur des périodes de temps. Ce type de modèle est cependant déficient quant à la description de la phase de dégradation.

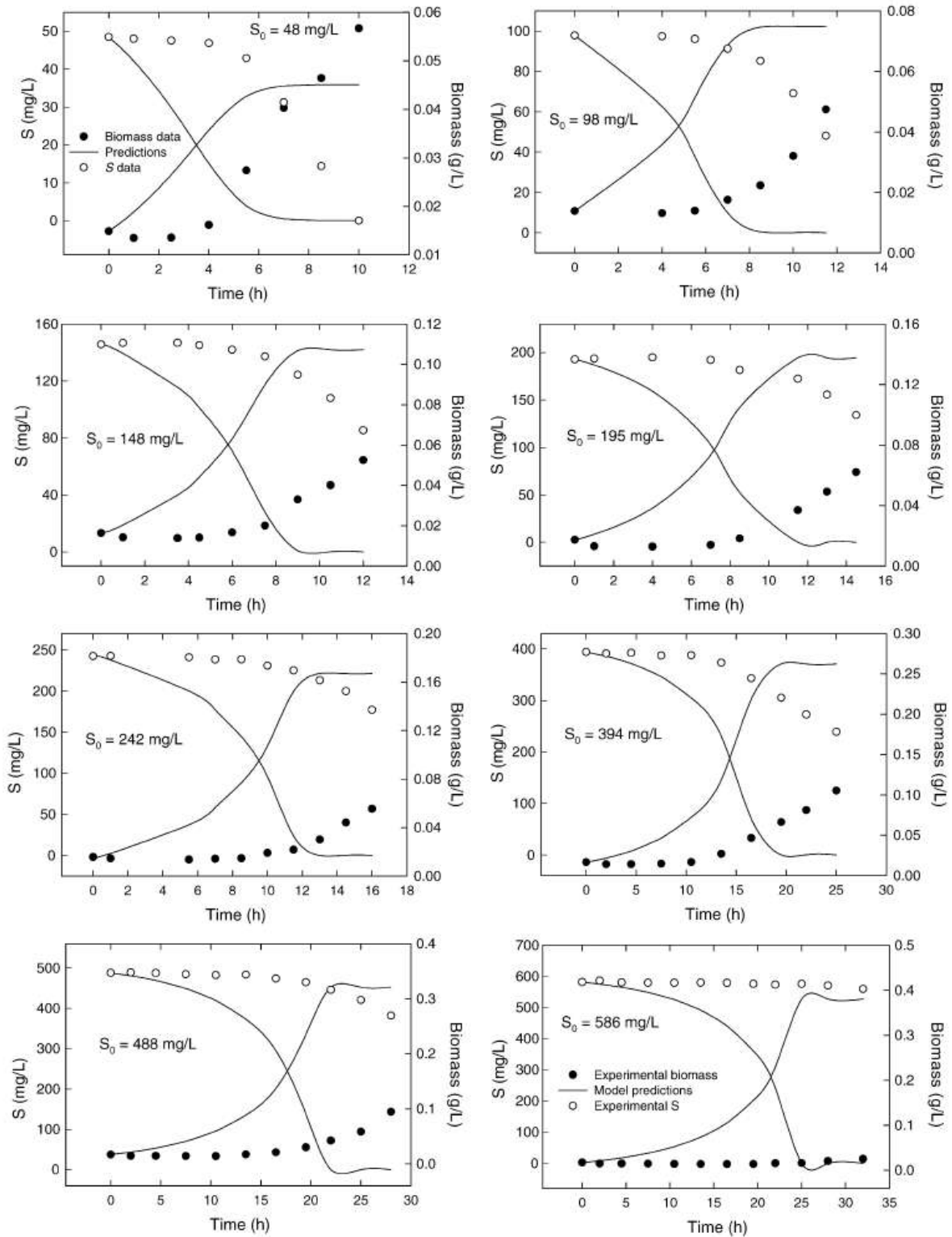


Figure I.11 : Comparaisons des profils expérimentaux et simulés pour des concentrations en phénol et en biomasse en utilisant le modèle à une phase de Haldane ($S_0 = 48\text{--}586$ mg.l⁻¹) (Chung et al., 2005).

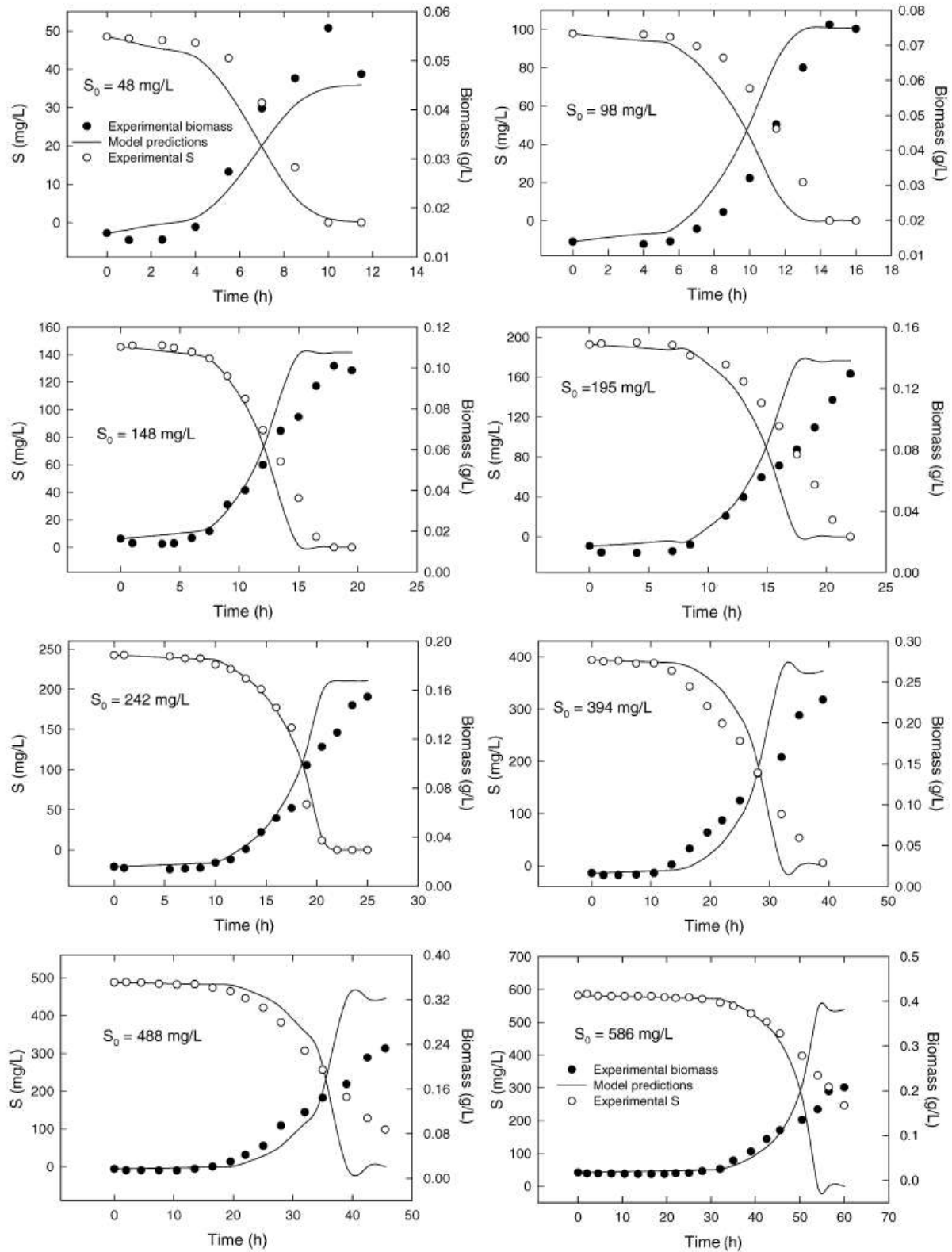


Figure I.12 : Comparaisons des profils expérimentaux et prévus de temps pour la concentration en phénol et en biomasse en utilisant le modèle à deux phases de Haldane ($S_0 = 48\text{--}586 \text{ mg.l}^{-1}$) (Chung et al., 2005).

1. Optimisation multiobjectif des procédés

D'après Dietz et *al.*, 2008, les problèmes multicritères sont largement répandus en génie des procédés, allant des applications de dimensionnement à la détermination des conditions de fonctionnement optimal, et impliquant l'optimisation simultanée de plusieurs objectifs incommensurables et souvent contradictoires. En se référant à l'exemple du dimensionnement d'un procédé, le décideur voudra normalement minimiser le coup d'investissement ou la valeur nette actuelle, mais en même temps, il voudra minimiser son impact sur l'environnement, maximiser sa sécurité, son contrôle et sa flexibilité.

En effet ces deux dernières décennies, plusieurs travaux ont été réalisés. Les méthodes d'optimisation multiobjectif ont servi à fiabiliser plusieurs procédés tant biologiques que chimiques, dans divers domaines d'application : en dimensionnement des procédés (Dietz et *al.*, 2008 ; Rezouga et *al.*, 2011), en gestion des déchets et recyclage (Komly et *al.*, 2012), en génie énergétique (Mellit et *al.*, 2009 ; Ouattara et *al.*, 2013), en dessalement des eaux par osmose inverse (Guria et *al.*, 2005), en biotechnologie pour la production de pénicilline (Steffens et *al.*, 1999), d'éthanol (Wang et Sheu, 2000) ou d'acide gluconique (Halsall-Whitney et *al.*, 2003), en traitement des eaux usées (Aragonés-Beltrán et *al.*, 2009 ; Rezouga et *al.*, 2011)...

Les procédés à boues activées sont généralement conçus dans le but d'épurer les eaux usées de la pollution qu'elles contiennent sans en générer d'autres. Outre la variabilité de la composition des eaux à traiter, et la nature des boues, optimiser un tel procédé, lors de sa conception, de sa mise en œuvre et de son fonctionnement, doit se faire sous des considérations environnementales, de normes, technologiques et de coût. Un tel problème peut être résolu en tenant compte des objectifs multiples et des contraintes multiples. Nous proposerons de le formuler comme étant un problème d'optimisation multiobjectif.

1.1. Principes de l'optimisation multiobjectif

Généralement dans un problème d'optimisation, on définit une fonction objectif ou fonction coût (voire plusieurs) que l'on cherche à minimiser par rapport à tous les paramètres concernés. L'optimisation multiobjectif traite le cas de la présence simultanée de plusieurs objectifs. Elle fut abordée pour la première fois dans les travaux de Edgeworth (1881) et Pareto (1896). Elle a été utilisée initialement en économie et dans les sciences de management puis progressivement dans les sciences de l'ingénieur. La définition d'un problème d'optimisation est souvent complétée par la donnée de contraintes : tous les paramètres (ou variables de décision) de la solution proposée doivent respecter des

contraintes, faute de quoi la solution n'est pas réalisable. Il existe de nombreuses méthodes d'optimisation « classiques », pour résoudre de tels problèmes, applicables lorsque certaines conditions mathématiques sont satisfaites : ainsi la programmation linéaire traite efficacement le cas où la fonction objectif, ainsi que les contraintes, s'expriment linéairement en fonction des variables de décision. La fonction objectif peut être non linéaire, ou même ne pas s'exprimer analytiquement en fonction des paramètres ; ou encore, le problème peut exiger la considération simultanée de plusieurs objectifs contradictoires.

1.2. Formalisme

L'optimisation multiobjectif consiste donc à optimiser plusieurs composantes d'un vecteur de coût, chaque composante de ce vecteur correspond à un objectif. Dans de nombreux domaines d'ingénierie, la plupart des problèmes d'optimisation des procédés sont devenus des problèmes d'optimisation multiobjectif. Un Problème d'Optimisation Multiobjectif (MultiObjective Optimization Problem - MOOP), peut être écrit sous la forme suivante :

$$(MOOP) = \begin{cases} \min F(x) = (f_1(x), f_2(x), \dots, f_n(x)) \\ \text{t.q. } x \in D \end{cases} \quad \text{Système I.1}$$

$n \geq 2$ est le nombre de fonctions objectif, $x = (x_1, x_2, \dots, x_r)$ le vecteur de variables de décision, D l'espace des solutions réalisables (espace décisionnel), et $F(x)$ le vecteur des n fonctions objectif à optimiser. L'ensemble $O = F(D)$ correspond à l'ensemble des points atteignables dans l'espace objectif et $f(x) = (f_1(x), f_2(x), \dots, f_n(x))$ est un point de l'espace objectif (**Erreur ! source du renvoi introuvable.**).

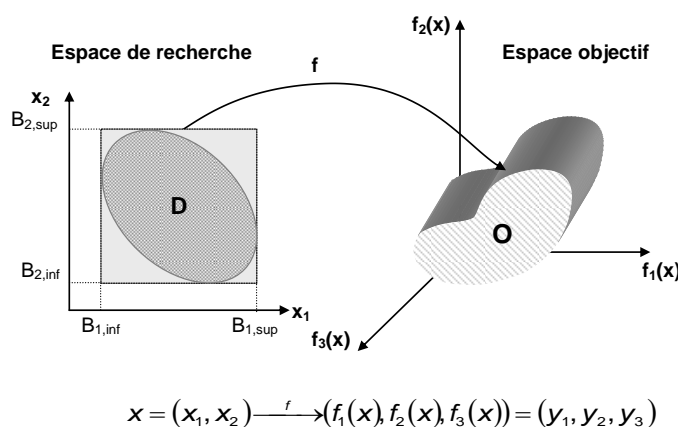


Figure I.13 : Problème d'optimisation multiobjectif : exemple avec $r=2$ variables de décision et $n=3$ fonctions objectif

Lorsque les variables de la fonction à optimiser sont contraintes d'évoluer dans une certaine partie de l'espace de recherche, le MOOP devient un MOOP sous contraintes et pourrait s'écrire sous cette forme :

$$(MOOP) = \begin{cases} \min & F(x) = (f_1(x), f_2(x), \dots, f_n(x)) \\ \text{avec} & G(x) = (G_1(x), G_2(x), \dots, G_m(x)) \leq 0 \\ \text{et} & H(x) = (H_1(x), H_2(x), \dots, H_p(x)) = 0 \\ \text{t.q.} & x \in D \end{cases} \quad \text{Système I.2}$$

$G(x)$ est le vecteur des m contraintes d'inégalité et $H(x)$ est le vecteur des p contraintes d'égalité. Cet ensemble de contraintes délimite un espace restreint de recherche de la solution optimale.

En général on trouve deux types de contraintes d'inégalité :

- Des contraintes de type $B_{i,\text{inf}} \leq x_i \leq B_{i,\text{sup}}$: les valeurs de x qui vérifient ces contraintes définissent l'espace de recherche (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).
- Des contraintes de type $c(x) \leq 0$ ou $c(x) \geq 0$: les valeurs de x qui vérifient ces contraintes définissent l'espace des solutions réalisables ou l'espace décisionnel (**Erreur ! Source du renvoi introuvable.**).

Lors de la résolution d'un problème d'optimisation multiobjectif, on rencontre souvent des objectifs contradictoires. Deux objectifs sont dits contradictoires lorsque la diminution de l'un entraîne l'augmentation de l'autre.

1.3. Solution d'un problème d'optimisation multiobjectif

La principale difficulté rencontrée lors de l'optimisation multiobjectif réside dans le fait de formuler le problème sous forme d'une équation unique. En outre, ramener le problème à une seule fonction objectif pourrait biaiser la modélisation. Traditionnellement, la manière la plus commune était d'emprunter l'approche des sommes pondérées ou d'optimiser l'un des objectifs et de transformer les autres en contraintes (Logothetis, 1998 et Edgar et al., 2001). Ces méthodes supposent qu'il existe une solution optimale unique, ce qui est acceptable dans certains cas et critiquable dans d'autres. En effet, l'inconvénient majeur de ces techniques réside dans l'éventualité d'aboutir à un ou plusieurs optimum(s) parmi un ensemble d'optimums globaux, et par conséquent d'en négliger d'autres lorsqu'il s'agit de fonctions non convexes, multimodales, ou discontinues (Halsall-Whitney et Thibault, 2006).

La recherche de solution par optimisation d'un unique objectif exploite une relation d'ordre total, alors que la résolution d'un problème d'optimisation multiobjectif aboutissant à un ensemble de solutions, nécessite d'introduire la notion de dominance. Car dans ce cas, la relation d'ordre n'est pas totale. En effet, une solution peut être meilleure qu'une autre sur certains objectifs et moins bonne sur les autres. Pour cette raison on parle plutôt de *solutions de compromis*. Un *décideur* choisit alors parmi les différentes solutions proposées par la recherche, la solution de compromis qui lui convient le mieux. Au lieu d'une solution optimale il existe plutôt un ensemble de solutions qui sont des *compromis*. Cet ensemble est généralement appelé « l'ensemble des solutions optimales de Pareto ». Ces solutions sont optimales dans le sens qu'aucune autre solution dans l'espace de recherche n'est supérieure à elles lorsque tous les objectifs sont considérés simultanément.

Dans un MOOP, le concept d'optimalité est remplacé par l'efficacité ou l'optimalité de Pareto. Les solutions efficaces (Pareto optimales, non dominées, ou non-inférieures) sont les solutions qui ne peuvent pas être améliorées dans une fonction objectif, sans altérer leur performance, dans au moins une partie de la fonction. La définition mathématique d'une solution efficace est la suivante: une solution réalisable x^* d'un MOOP est efficace (non dominées) s'il n'y a pas d'autre solution x réalisables telles que $f_i(x) \leq f_i(x^*) \forall i \in \{1, \dots, n\}$ (Ouattara et *al.*, 2013)

1.4. Théories et méthodes de résolution

L'utilisation d'une sélection basée sur la notion de dominance de Pareto va faire converger la population vers un ensemble de solutions efficaces. Ce concept ne permet pas de choisir une alternative plutôt qu'une autre mais il apporte une aide précieuse au décideur. Ainsi, il faut sélectionner une solution dans cet ensemble. La solution choisie par le décideur va refléter les compromis opérés vis-à-vis des différentes fonctions objectif. L'un des objectifs d'une telle optimisation va être de modéliser les choix du décideur ou plutôt ses préférences (Colette et Siarry, 2002). Pour ce faire, il y a deux grandes théories :

- **La théorie de l'utilité multi-attribut** (Keeney et *al.*, 1993) :

C'est une approche qui va chercher à modéliser les préférences du décideur, en postulant qu'implicitement chaque décideur cherche à maximiser une fonction appelée *fonction d'utilité*. Cette approche n'accepte pas qu'il y ait en fin de sélection, des solutions ex-æquo. En génie biologique ou chimique, l'alternative de trouver des ex-æquo ne peut être écarté s'il s'agit par exemple de dimensionner, ou de fiabiliser un procédé.

- **La théorie de l'aide à la décision** (Roy et al., 1993)

C'est une approche qui cherche à reproduire le processus de sélection du ou des décideurs. Pour cela les méthodes développées s'appuient sur des outils permettant d'opérer des sélections de solutions parmi un ensemble de solutions. Cette approche accepte que l'on obtienne des solutions ex-aequo. Les méthodes basées sur cette approche et leurs fondements sont dus essentiellement à l'école française et utilisent notamment les notions de *surclassement* et de *préférence* (Roy, 1985).

1.4.1. Choix de la méthode d'aide à la décision (décideur)

Pour résoudre les problèmes d'optimisation multiobjectif, il existe un grand nombre de méthodes. D'une manière générale et selon les auteurs, ces problèmes peuvent être traités de trois (Colette et Siarry, 2002) ou quatre (Andersson, 2000 et Coello Coello, 2000) manières différentes en fonction de l'instant où le décideur articule ses préférences pour les différents objectifs: jamais, avant, pendant, ou après le processus effectif d'optimisation. C'est une classification par rapport au décideur.

- **Les méthodes d'optimisation sans préférences** : Il y a des méthodes qui n'emploient aucune information de préférence, par exemple la méthode Min-Max et la méthode du critère global (Hwang et al, 1980 ; Osyczka, 1984 et Steuer 1986).
- **Les méthodes d'optimisation à priori** : Ici le compromis est formulé avant l'exécution de la méthode d'optimisation. Il suffit donc, d'effectuer une seule recherche. Ceci signifie qu'avant que l'optimisation réelle ne soit conduite les différentes fonctions objectif doivent être agrégés en une simple fonction objectif. En fin d'optimisation, la solution obtenue reflète le compromis que l'on désirait effectuer entre les fonctions objectif avant de lancer la recherche. Cependant, une fois l'optimisation est terminée et le résultat examiné, le décideur « humain » est susceptible de constater que la solution obtenue n'est finalement pas acceptable et qu'il souhaite une solution qui pèse un autre compromis. C'est la manière la plus commune de conduire une optimisation multiobjectif. Le meilleur exemple est donné par les méthodes de « goal programming » (programmation par buts) (Ehrgott et Gandibleux, 2000).
- **Les méthodes d'optimisation progressive** : Ces méthodes sont aussi connues sous le nom de « méthodes interactives ». Elles sont utilisées sous l'hypothèse que le décideur ne peut pas exprimer ses préférences 'a priori' à cause de la complexité du problème. Dans ces méthodes, on cherche à questionner le décideur, en cours d'exécution de l'optimisation, afin de pouvoir orienter la recherche vers des zones susceptibles de contenir des solutions satisfaisant les compromis à opérer entre les fonctions objectif.

Pendant l'évolution de la recherche, le décideur apprend plus au sujet du problème, et devient donc capable de donner les directions pour apporter des améliorations. Ces méthodes présentent l'inconvénient de monopoliser l'attention du décideur tout au long de l'optimisation. Ces méthodes progressent habituellement en changeant les poids dans une approche de somme pondérée, par exemple dans le cas de la méthode proposée par Steuer et Choo (1983), ou en réduisant progressivement l'espace de recherche. Il y a également d'autres types de méthodes itératives, telles que des algorithmes génétiques interactifs.

- **Les méthodes d'optimisation à posteriori** : Ces méthodes cherchent des solutions bien réparties dans l'espace de solutions. Le but sera ensuite de proposer ces solutions au décideur afin de pouvoir sélectionner la solution la plus satisfaisante en jugeant les différentes solutions proposées. Ici, il n'est pas nécessaire de modéliser les préférences du décideur (ce qui peut s'avérer fastidieux). Il y a un certain nombre de techniques qui permettent d'abord de rechercher l'espace de solutions pour un ensemble de solutions Pareto optimales, puis les présentent au décideur. Le grand avantage de ce type de méthodes c'est que les solutions sont indépendantes des préférences du décideur. L'analyse n'est exécutée qu'une seule fois, car l'ensemble de Pareto reste le même tant que la description du problème demeure inchangée. Beaucoup de méthodes d'approximation (heuristiques) sont conçues suivant ce mode de résolution (Ehrgott et Gandibleux, 2000).

L'inconvénient qu'il faut souligner, est qu'il faut générer un ensemble important de solutions qui soient bien réparties. En outre, cette tâche pourrait requérir un temps d'exécution prohibitif. Il y a cependant des méthodes qui assurent le tri du domaine de Pareto afin de grouper les solutions optimales qui ont les propriétés semblables. En effet, dans ce type de méthode, deux phases importantes sont à considérer : la phase de recherche de l'ensemble des solutions Pareto optimales, et la phase de choix parmi ces solutions, qui relève de l'aide à la décision.

Nous nous placerons dans le cadre de cette dernière famille de méthodes où la modélisation des préférences n'est pas requise et où le processus d'optimisation doit être puissant pour fournir l'ensemble des solutions Pareto optimales ou à défaut une très bonne approximation de la frontière Pareto.

1.4.2. Classification des méthodes d'optimisation multiobjectif (concepteur)

D'une part, en 1999, Talbi classe les méthodes de résolution des algorithmes évolutionnaires en trois groupes :

- **La transformation vers un problème mono-objectif** consiste à combiner les divers objectifs en les pondérant. Ces méthodes sont de type "à priori".
- **Les approches non-Pareto** utilisent des opérateurs qui traitent séparément les différents objectifs. L'exemple le plus classique est l'algorithme VEGA (Vector Evaluated Genetic Algorithm). Ces méthodes ont souvent du mal à trouver les solutions de compromis puisqu'elles se focalisent sur les portions extrêmes du front. Il s'agit principalement d'approches de type "à posteriori".
- **Les approches Pareto** utilisent la notion de dominance pour comparer les solutions entre elles. Une seule résolution permet d'approximer l'ensemble de la frontière Pareto. Ces approches visent à atteindre deux buts : d'une part converger vers la frontière Pareto optimale et d'autre part obtenir des solutions diversifiées –i.e. réparties sur toute cette frontière. C'est ce type de méthodes que nous allons considérer dans cette étude. Ces approches appartiennent également aux approches de type "à posteriori". L'un des premiers à discuter de l'intérêt de l'utilisation de la notion de dominance pour la recherche de solutions a été Goldberg (1989).

La plupart des approches évolutionnaires multicritères courantes utilisent les approches Pareto "à posteriori" (Coello, 1999 ; Van Veldhuizen, 2000 ; Dupras, 2004).

D'autre part, d'un point de vue conceptuel, d'après De Weck (2004), les méthodes d'optimisation multiobjectif pourraient être largement décomposées en deux catégories: les méthodes de scalairisation (ou agrégées) et les méthodes évolutionnaires. À partir d'une classification populaire, les méthodes de scalairisation, où le MOOP est transformé en un problème monoobjectif, s'appliquent à des problèmes bien définis mathématiquement, avec des formulations explicites d'objectifs et de contraintes. D'un autre côté, les méthodes évolutionnaires sont principalement utilisées dans des problèmes de boîte noire, où les objectifs et/ou les contraintes sont évaluées par un programme informatique externe, pour chaque valeur des variables d'optimisation.

D'après Ouattara et *al.* (2013), les problèmes de la boîte noire sont des situations classiques dans les applications du génie chimique où des bilans thermiques et de matière, conduisant à des ensembles complexes d'équations non linéaires, de plus, les bilans peuvent produire des équations différentielles ordinaires. Ces mêmes auteurs expliquent qu'outre la fonctionnalité des problèmes à boîte noire, la possibilité d'éviter les optimums locaux et la capacité de calculer l'ensemble du front de Pareto en une seule fois, rend, également, ce type de méthodes attrayantes, ce qui explique pourquoi ils ont considérés dans ce travail.

Une alternative est d'utiliser des algorithmes génétiques (GA), qui sont facilement applicables à des problèmes multicritères et sont donc largement utilisés dans de nombreux domaines de l'ingénierie (Gomez et *al.*, 2010 et Ouattara et *al.*, 2012).

1.5. Algorithmes évolutionnaires

La « philosophie » des algorithmes évolutionnaires (AE) fondée à la fin les années 50, consiste à s'inspirer des mécanismes de l' « évolution naturelle » et à utiliser le concept de populations d'individus ou solutions pour résoudre des problèmes du monde réel. Holland étudie les systèmes évolutifs et, en 1975, il introduit le premier modèle formel des algorithmes génétiques (*the canonical genetic algorithm AGC*). Il expliqua comment ajouter de l'intelligence dans un programme informatique avec les croisements (échangeant le matériel génétique) et la mutation (source de la diversité génétique). Ce modèle servira de base aux recherches ultérieures de Goldberg (1989), qui ajouta les notions suivantes :

- Un individu est lié à un environnement par son code d'ADN.
- Une solution est liée à un problème par son indice de qualité.

Michalewicz et Schoenauer (1996) classent les algorithmes évolutionnaires en trois groupes : *la programmation évolutionnaire* (Fogel et *al.*, 1966) , *les stratégies d'évolution* (Rechenberg, 1973) et *les algorithmes génétiques* (Holland, 1975). Une branche annexe, *la programmation génétique* (Koza, 1992) peut aussi rentrer dans ce type de systèmes. D'autres techniques sont aux frontières du domaine telles que les *Classifieurs* (Holland, 1986) par exemple ou telles que les modèles récents de *l'essaim de particules* (Kennedy et Eberhart, 1995) et *des colonies de fourmis* (Dorigo ,1996).

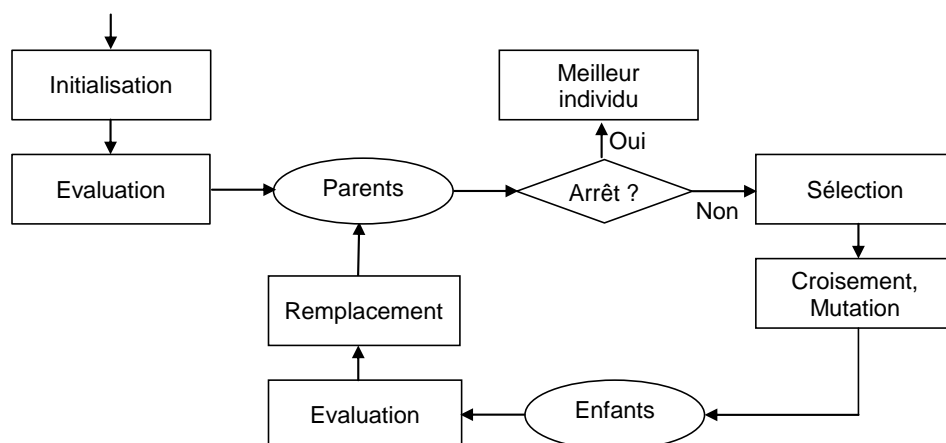


Figure I.14 : Principe de fonctionnement des algorithmes évolutionnaires

Ci-dessus (Figure I.14) est présenté l'organigramme d'un algorithme évolutionnaire. Il s'agit de simuler l'évolution d'*individus parents* sélectionnés à partir d'une population de départ (généralement d'une façon aléatoire) qui se reproduisent par différentes opérations (*croisements, mutations...*) pour engendrer de nouveaux individus. Une nouvelle population est ainsi générée par *remplacement* d'une partie ou de m'ensemble de population de départ. Le processus de *sélection* intervient à chaque génération. Si la sélection s'opère à partir de la fonction d'adaptation des individus à leur environnement, alors la population tend à s'améliorer. Le résultat de cette évaluation est appelé *fitness* ou *efficacité* de l'individu. C'est une approche itérative qui permet d'engendrer une succession de générations de solutions jusqu'à satisfaction du critère d'arrêt imposé.

Par analogie avec la biologie, la terminologie courante désignant un individu (ou solution) de la population est défini par deux caractéristiques :

- Le *phénotype* est l'apparence, ou le comportement de l'individu dans un environnement donné, permettant de savoir si la solution est bonne ou mauvaise.
- Le *génotype* est la représentation des gènes de l'individu. Comme en biologie le génotype implique le phénotype. En effet l'apparence de l'individu est fonction de ses chromosomes.

Notre objectif étant l'optimisation "à posteriori" et donc la génération de l'ensemble des solutions Pareto, les méthodes à base de populations travaillant avec un ensemble de solutions potentielles, tels que les algorithmes évolutionnaires, sont bien adaptées à ce type de problème (Deb, 2001 ; Coello Coello et *al.*, 2002 ; Dhaenens-Flipo, 2005).

La revue de la littérature (Van Veldhuizen et Lamont, 2000; Branke et *al.*, 2004 ; Turinsky et *al.*, 2005 ; Mansouri et *al.*, 2007 ; Ouattara et *al.*, 2013) révèle que les algorithmes évolutionnaires, se sont avérés être des techniques d'optimisation puissantes et robustes dans de nombreux cas . Parmi les méthodes évolutionnaires, les algorithmes génétiques sont généralement des méthodes attrayantes dans la communauté du génie chimique.

Dans ce qui suit nous nous intéresserons uniquement aux particularités des algorithmes génétiques qui sont encore aujourd'hui les techniques les plus connues de ce domaine, et que nous avons utilisés dans le chapitre IV.

1.5.1. Les algorithmes génétiques

Les algorithmes génétiques favorisent l'utilisation du croisement comme principal opérateur de recherche. Ils utilisent cependant la mutation avec un faible pourcentage de

probabilité. Une méthode de sélection de type probabiliste est utilisée. La représentation des individus (génotype), qui est à l'origine de type binaire, a été par la suite étendue à de nombreuses autres formes de représentation, à caractère multiples, flottante, sous forme d'arbre... (Dupas, 2004). Cette étape associe à chacun des points de l'espace de recherche une structure de données. Elle se place généralement après une phase de modélisation mathématique du problème traité.

L'efficacité de l'algorithme dépendra grandement du choix de cette représentation ce qui présente deux difficultés : limiter l'espace de recherche et fournir des solutions valides pour le problème

Une fois la représentation terminée, l'exécution de l'algorithme, dont les étapes sont détaillées ci-dessous, peut commencer. La Figure I.15 schématise un algorithme génétique d'après Dietz et *al.* (2008).

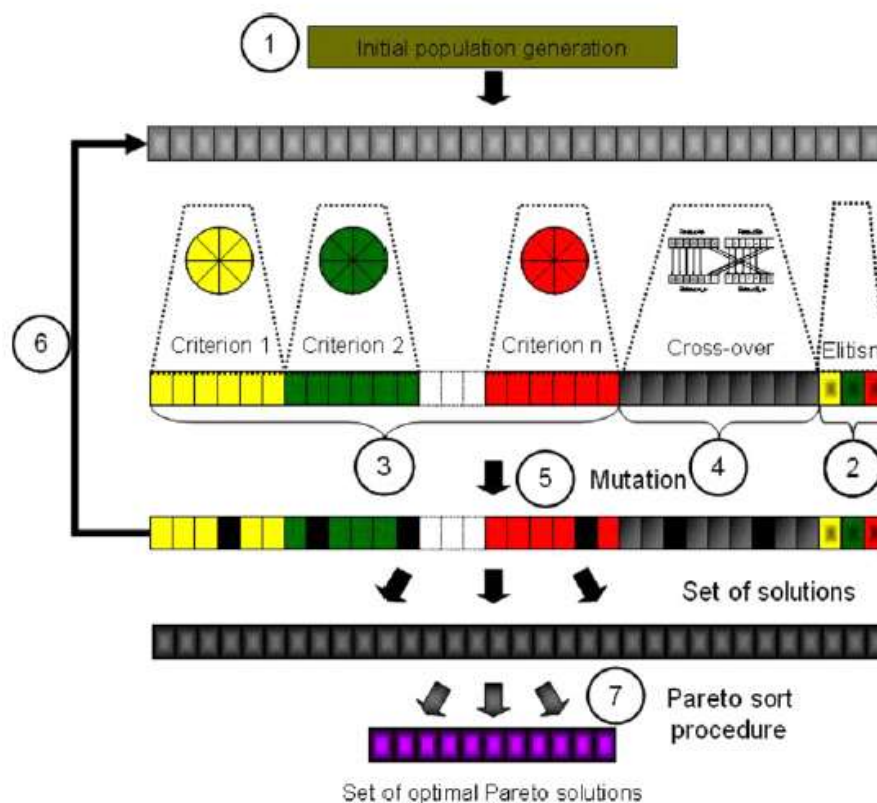


Figure I.15 : Algorithme génétique multiobjectif (Dietz et *al.*, 2008)

- **Initialisation** : Le choix de la population initiale est déterminant car il peut rendre plus ou moins rapide la convergence vers l'optimum global. On définit ainsi à cette étape la taille des populations qui ne doit pas être trop élevée pour que le temps de calcul soit raisonnable ni trop faible pour que la solution trouvée soit intéressante. Pour composer

cette première population, on fixe aléatoirement la valeur des gènes d'un individu selon une distribution uniforme. Il est important que la population initiale soit répartie sur tout le domaine de recherche.

- **Sélection** : Cette étape consiste à choisir les individus (appelés parents) parmi la population qui permettra de produire des enfants pour la prochaine population. Le choix des parents devrait être lié aux valeurs de fonction objectif afin de favoriser de meilleures solutions. Les opérateurs de sélection utilisés sont généralement de type probabiliste avec un tirage des individus souvent basé sur la méthode de la roulette (Goldberg, 1989), dans laquelle la probabilité de sélection est proportionnelle au fitness de l'individu. La méthode du tournoi est aussi largement utilisée comme opérateur de sélection.
- **Croisement** : Le croisement a pour but de produire de nouvelles solutions à partir de parents choisis. L'opérateur de croisement prend un certain nombre de parents et crée un certain nombre d'enfants par recombinaison des parents. Pour imiter la nature stochastique de l'« évolution », une probabilité de mutation donnée. C'est l'opérateur essentiel de recherche d'un algorithme génétique. Plusieurs méthodes de croisement sont utilisées (en un point, en deux points, en k points ou uniforme)
- **Mutation** : En contraste avec l'opérateur de croisement, l'opérateur de mutation modifie aléatoirement les individus en changeant certaines proportions du vecteur de décision associé selon probabilité de mutation donnée. L'objectif essentiel de cette étape est d'assurer la diversité de la population afin d'éviter d'être coincé dans une région sub-optimale et afin de balayer également la totalité de l'espace de recherche. Le taux de mutation (probabilité d'occurrence de cette opération) est un compromis entre l'exploration de l'espace de recherche et le nombre d'évaluations de la fonction avant d'atteindre l'optimum (Beraud, 2009).
- **Terminaison** : Si le critère d'arrêt est atteint l'algorithme est arrêté, sinon on recommence à partir de la phase de sélection pour une nouvelle itération. Il faut noter que le critère d'arrêt n'est pas toujours évident à formuler, vu qu'avec de tel processus stochastique il est impossible de prédire le nombre de générations nécessaires pour atteindre l'optimum.

Un algorithme génétique diploïde (AGD), dont les principes ont été élaborés par Perrin et *al.*, (1997), est employé pour ce présent travail. En marge des représentations haploïdes, La diploïdie consiste à tenir compte du fait que pour la plupart des espèces, les chromosomes vont par paires. Les allèles sont donc appariés deux à deux, et un

mécanisme intervient. Si le gène dominant est couplé à un gène récessif, seul le gène dominant sera exprimé dans le phénotype final. Pour qu'un gène récessif puisse être exprimé, il doit nécessairement être couplé un gène également récessif. Cette particularité permet de rendre les algorithmes plus robustes, particulièrement en environnement dynamique, grâce à cette redondance d'information qui lui donne une sorte de "mémoire" à long terme (Fonteix et *al.*, 1995).

Chaque individu est codé de manière diploïde, où la première partie du codage correspond à l'individu proprement dit, et la seconde à sa probabilité de mutation. Dans cette dernière partie du codage, chaque individu est affecté d'une probabilité de mutation propre, que l'on fait décroître au cours des générations. On obtient donc en fin de recherche une probabilité de mutation moyenne pour l'ensemble de la population. Cette approche permet de réaliser un grand brassage génétique au début de la recherche, par suite de fortes probabilités de mutation, qui sont généralement imposées. Par contre, en fin de recherche, les probabilités ayant fortement diminué, les bons individus sont conservés et permettent d'obtenir une population finale homogène constituée uniquement de très bons individus (Zararé, 2005).

Dans le but d'optimiser un procédé de production d'acide gluconique, Halsall-Whitney et Thibault (2003) ont utilisé un algorithme génétique diploïde développé par Perrin et *al.* (1997). Il s'agit d'une fermentation de glucose en acide gluconique par *Pseudomonas ovalis*, dans un CSTR en batch. Les différentes cinétiques ont été prises en compte par un modèle mathématique.

Les auteurs ont développé 3 stratégies d'optimisation différentes, en faisant varier le nombre d'entrées, par rapport critères à optimiser qui restent toujours les mêmes.

Schématiquement, l'un des problèmes d'optimisation multiobjectif proposé est illustré par le synoptique de la Figure I.16.

Les critères choisis dans cet exemple sont clairement contradictoires, puisqu'il s'agit de maximiser la productivité en acide gluconique du bioprocédé, ainsi que sa concentration finale, tout en minimisant la concentration en glucose résiduel dans le milieu, à la fin de la fermentation.

Après convergence de l'algorithme génétique diploïde, un espace d'entrées de 8000 points a été remplacé par l'espace de Pareto optimisé, avec le même nombre de points, décrit par la Figure I.17.

On conclut qu'en partant d'un espace de recherche bien balayé, les points du domaine de Pareto ont convergé vers une zone de fonctionnement optimal. N'importe quel point de

cette zone représente un point efficace ou non dominé. L'espace des critères après optimisation est représenté par la Figure I.18.

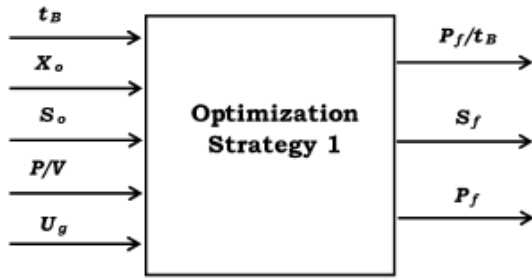


Figure I.16 : Schéma de la stratégie 1 d'optimisation multiobjectif ($t_B \in [5 \ 15]h$,

$$S_0 \in [20 \ 50]g.l^{-1},$$

$$X_0 \in [0.05 \ 1.0]UDO.ml^{-1},$$

$$P/V \in [345 \ 2155]W.m^{-3},$$

$$U_g \in [0.0025 \ 0.01]m.s^{-1})$$

Variables d'entrée

t_B : temps du batch,

X_0 : concentration initiale en cellules,

S_0 : concentration initiale en substrat,

P/V : puissance d'agitation du réacteur,

U_g : vitesse superficielle du gaz à l'entrée du réacteur

Critères à optimiser

P_f/t_B : productivité de l'acide gluconique,

S_f : concentration finale du substrat,

P_f : concentration finale en acide gluconique

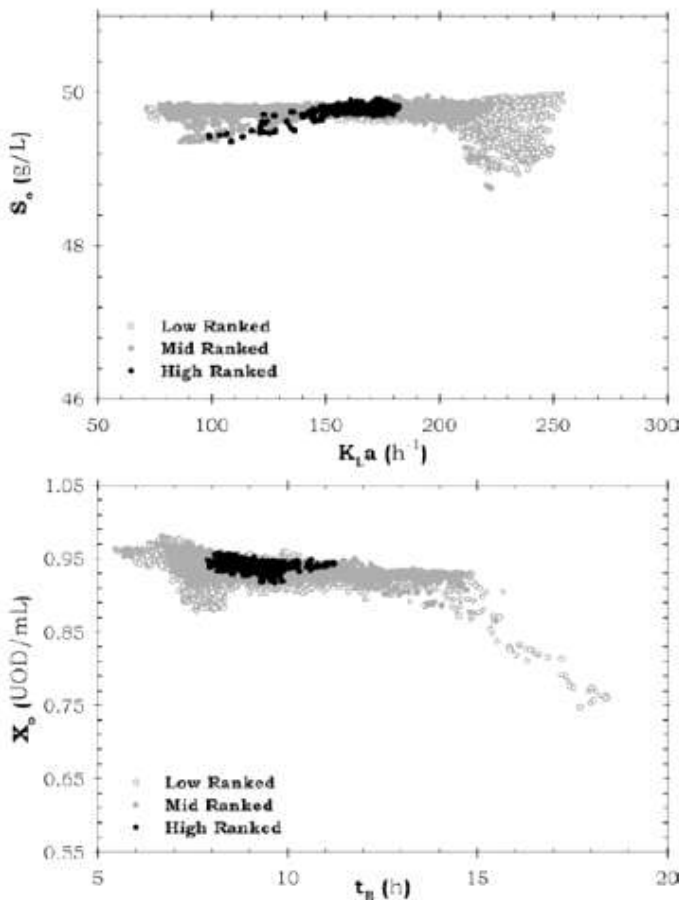


Figure I.17 : Domaine de Pareto optimis ($K_L a = f(P/V)$)

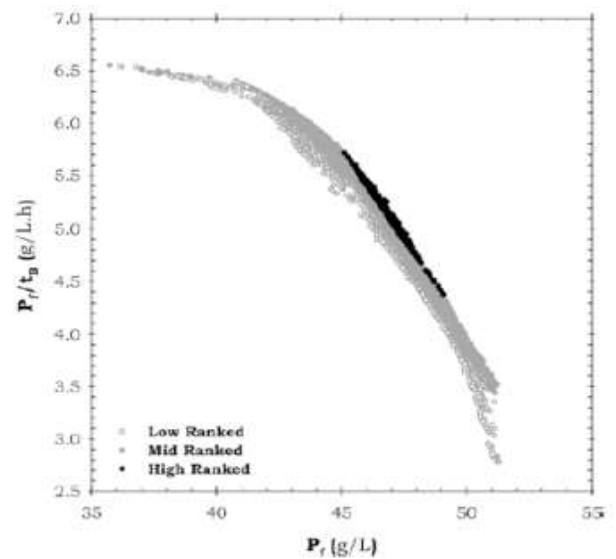


Figure I.18 : Espace des critères après optimisation

Dans cet exemple bien précis, Halsall-Whitney et Thibault (2003) ont appliqué une méthode de surclassement de toutes les solutions possibles du domaine généré de Pareto. La méthode utilisée est basée sur un algorithme NSGA (Non Dominated Sorting Genetic Algorithm, Deb (2001)), appelée la méthode des bilans de flux (NFM). Elle permet de classer les points efficaces en 3 catégories (points à faible classement, à moyen classement et à fort classement).

Ceci a nécessité l'intervention du décideur, *a priori*, qui a exprimé ses préférences, en donnant des valeurs à des paramètres tels que le poids (W_k) de chaque critère k , le seuil d'indifférence (Q_k), le seuil de préférence (P_k) et le seuil du veto (V_k), pour chaque critère. Ce qui pourrait être préjudiciable, si la valeur de l'un de ces paramètres n'a pas été judicieusement fixée. En effet, nous avons préféré éviter, entre autre, les pondérations des critères pour ne pas tomber dans « le piège » de la scalairisation des critères en une seule fonction objectif, avec toutes les conséquences préjudiciables qui peuvent en découler.

Pour toutes les raisons sus citées, nous nous sommes contentés, dans le chapitre IV de l'application de l'AGD, développé par Perrin et *al.* (1997).

2. Conclusion

Certes, lorsque nos eaux sont polluées par des molécules chimiques inhibitrices, il est nécessaire d'avoir, tout d'abord, une connaissance approfondie de ces caractéristiques physico-chimiques. D'un autre côté, il est indispensable de pouvoir caractériser leurs effets sur le milieu récepteur et par conséquent sur l'équilibre biologique des espèces des écosystèmes. Souvent, le premier impact constaté, est au niveau de la phase de traitement secondaire biologique des stations d'épuration. En fonction du caractère inhibiteur, parfois toxiques, de certaines molécules, une inactivation plus ou moins poussée de l'activité des micro-organismes est observée.

L'inhibition des micro-organismes dépend de l'interaction de plusieurs facteurs, outre la nature et la concentration en composé inhibiteur et en biomasse. En effet, les paramètres environnementaux sont d'une importance capitale, car ils influent sur les interactions substrat /inhibiteur/micro-organisme.

De ce fait, une étude mécanistique élargie, est indispensable à la compréhension des cinétiques microbiennes d'inhibition des boues activées. L'étude bibliographique des molécules inhibitrices, de type phénolé, tel que le *p*-NP, par rapport à l'activité microbienne, dans un consorsium de boues, a montré l'existence d'un vaste choix de tests d'inhibition. L' IC_{50} (ou l' EC_{50}) reste le paramètre d'estimation de l'inhibition, par excellence.

Notre choix c'est porté sur l'outil respirométrique qui a largement été utilisé dans ce sens. Afin de renforcer l'étude cinétique « prédictive », l'outil de la modélisation a été envisagé.

La modélisation de la cinétique microbienne en présence d'un inhibiteur, quelque soit son type, a fait l'objet de plusieurs études depuis Haldane, 1965. Etant un phénomène assez complexe à décrire d'une manière explicite et catégorique, la modélisation de l'inhibition suit encore plusieurs théories. Il faut, quand même, noter que, le modèle de Haldane reste l'un des modèles les plus largement utilisés pour décrire l'inhibition par le substrat. C'est pour cela, qu'on a fait le choix de ce formalisme, dans l'établissement de nos différents modèles mathématiques.

Une étude mécanistique préalable, couplée à une maîtrise des différentes opérations unitaires est nécessaire lors du dimensionnement, de la mise en place et de la conduite des procédés à boues activées, dans une STEP. Ayant pour objectif, de réduire l'impact des rejets sur l'environnement d'un côté, et de réduire les différents coûts d'un procédé à boues activées, les méthodes d'optimisation multiobjectif, ont été passées en revue. En effet, la revue bibliographique nous a permis de faire le choix des Algorithmes Génétiques Diploïde, communément utilisée dans le domaine des bioprocédés et des procédés chimiques.

Chapitre II : Matériel et Méthodes

1. Méthodes expérimentales

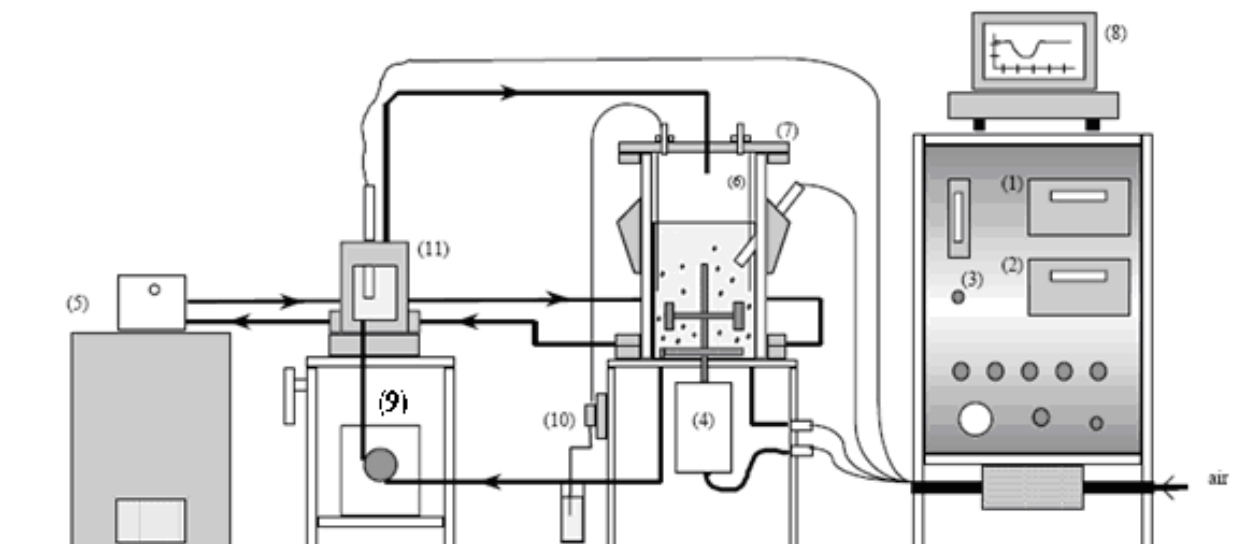
1.1. Méthode respirométrique

La respirométrie est un moyen performant pour l'estimation de l'activité biologique des populations microbiennes. Elle permet d'étudier les cinétiques biologiques en suivant, à temps réel, l'évolution de la vitesse de consommation d'oxygène des microorganismes (rO_2). Lors de cette étude, seule la respirométrie fermée séquencée a été utilisée, vu les avantages qu'elle présente, dont la limitation des phénomènes de transfert de l'oxygène de l'aire dans le milieu réactionnel.

1.1.1. Description générale du respiromètre

Le respiromètre, illustré par la Figure II.1, est constitué d'un réacteur biologique ($h/D = 27/15$ cm), en verre, ayant un volume utile de 3.5 litres. Le bioréacteur est relié à une cellule de mesure cylindrique isolée ($V = 0.25$ l) par l'intermédiaire d'une pompe péristaltique (0.45 l/min), appelée cellule respirométrique. La mesure de la concentration en oxygène dans la cellule est réalisée par une sonde de type WTW (Cellox 325), reliée à un oxymètre D de type WTW (Oxi 538). Les deux récipients sont maintenus à la température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$ par une double enveloppe alimentée par un cryothermostat. Le pH est mesuré dans le réacteur par une électrode de type Schott Gerate H8281, reliée à un contrôleur pH de type Consort R301, et il est régulé ($7 < \text{pH} < 7.5$) par deux pompes péristaltiques alimentant le réacteur par des solutions basique (NaOH) et acide (HCl) à 0.1 N. L'agitation dans le réacteur est réalisée par un système de quatre pales montées sur un arbre qui est relié à un moteur (Sirem à 90 tr/min), dans le but de maintenir l'oxygène dissous (DO) entre 6 et 8 $\text{mgO}_2 \cdot \text{l}^{-1}$, et par un agitateur magnétique dans la cellule. Celle-ci est totalement hermétique au gaz alors que le réacteur est aéré par l'intermédiaire d'un diffuseur à bulles. Le débit d'air est contrôlé par un manomètre (Norgren) mesurant une pression d'air entre 0 et 4 bar.

Le fonctionnement du respiromètre est géré par ordinateur via un logiciel développé au Laboratoire d'Ingénierie des Procédés de l'Environnement (LIPE). Ce programme permet d'une part de visualiser et de stocker les paramètres mesurés en continu et, d'autre part, d'automatiser certaines tâches comme, par exemple, l'ajout de ou des substrat(s) ; la gestion de l'alimentation (fonctionnement en batch, SBR ou continu) ou de la purge ; l'aération ; ou le temps de recirculation. Le logiciel sert également à calculer la vitesse de consommation d'oxygène (rO_2).



(1) oxymètre – (2) pH-mètre – (3) régulation aération - (4) moteur de l'agitateur - (5) cryothermostat – (6) chicanes – (7) réacteur double enveloppe - (8) micro-ordinateur - (9) pompe d'alimentation de la cellule – (10) pompes de régulation pH – (11) cellule de mesure

Figure II.1 : Schéma du respiromètre

1.1.2. Respirométrie fermée séquencée

Pour étudier les cinétiques de dégradation, la vitesse de consommation d'oxygène est mesurée par le principe de la respirométrie « fermée » : la consommation en oxygène est mesurée dans la cellule respirométrique étanche, totalement remplie de liquide.

Le système d'acquisition et de commande permet d'actionner la pompe de recirculation régulièrement afin de renouveler et aérer le liquide contenu dans la cellule de mesure. Les cycles de mesure sont composés de trois phases (c'est la respirométrie fermée « séquencée ») :

La phase de recirculation : La recirculation de la liqueur mixte vers la cellule respirométrique a lieu à intervalle de temps régulier. Elle permet de renouveler la liqueur mixte dans la cellule.

La phase de temporisation : Elle a pour but d'éviter une répercussion de la dynamique de la sonde sur la mesure, et permet donc de stabiliser cette dernière.

La phase de mesure de la vitesse de consommation d'oxygène, pendant laquelle la concentration en oxygène diminue et conduit à un calcul de vitesse de consommation d'oxygène par un simple calcul de pente :

$$r_{O_2} = -\frac{d[O_2]_{\text{dissous}}}{dt}$$

Équation II.1

Une agitation importante est maintenue dans la cellule, afin d'éviter un appauvrissement en oxygène près de la sonde et une homogénéisation de la concentration en O_2 . Cette phase peut être contrôlée selon trois critères :

- Une durée maximale fixée ;
- Un gradient de concentration en oxygène maximal ;
- Un seuil de concentration en oxygène minimal.

La pompe de recirculation sera actionnée et la nouvelle phase d'alimentation de la cellule sera déclenchée, si l'une de ces trois conditions est atteinte. Ainsi, un nouveau cycle de mesure commence.

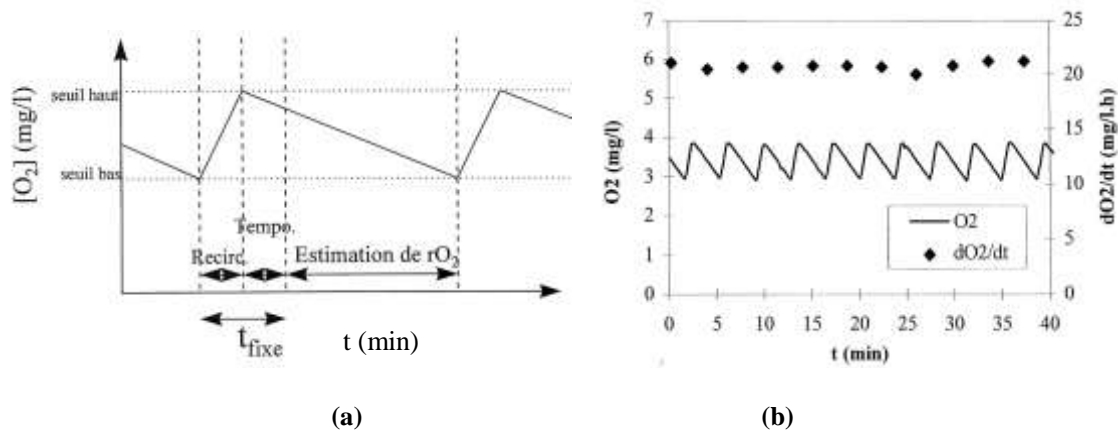


Figure II.2 : Mesure de la vitesse de consommation d'oxygène sur ; (a) un cycle de mesure ; (b) une succession de cycles de mesure.

Les réponses respirométriques sont sous forme de respirogramme, représentant la vitesse de consommation de l'oxygène dans la cellule en fonction du temps.

1.1.3. Essais respirométriques

1.1.3.1. Matériel biologique

Toutes les expériences respirométriques ont été réalisées avec des boues activées prélevées des boues de retour des stations d'épuration d'eaux résiduaires urbaines (faible S/X) de « Ginestous », « Muret » et « Labège » de la région Toulousaine. Elles sont tamisées afin d'en éliminer les matières en suspension de taille importante. Puis ces boues

sont diluées pour fixer les concentrations en MES et MVS voulues. Ensuite, celles-ci sont introduites dans le réacteur agité et aéré, et l'acquisition des concentrations en oxygène, du pH et de la température est lancée, et le rO_2 est calculé. Avant d'apporter le substrat et/ou l'agent inhibiteur, les boues sont généralement « maturées » pendant 24 afin d'en éliminer les matières organiques résiduelles, elles sont maintenues aérées dans le respiromètre jusqu'à la stabilisation de la respiration endogène.

1.1.3.2. Substrats

Un substrat synthétique biogénique de type OCDE (Méthode OCDE 209) est utilisé comme source de carbone facilement biodégradable. Une solution mère est préparée à une concentration de 200 mgDCO.l^{-1} , dont la composition est détaillée dans le Tableau II.1.

Tableau II.1 : Composition du substrat synthétique facilement biodégradable

Composé	Concentration
Peptone.....	12.8 mgDCO.l^{-1}
Extrait de viande.....	176 mgDCO.l^{-1}
Propionate de Sodium.....	5.5 mgDCO.l^{-1}
Ethanol.....	5.5 mgDCO.l^{-1}
NaCl.....	2.1 g.l^{-1}

Le *p*-nitrophénol est utilisé sous forme de poudre (ACROS ORGANICS USA, pureté = 98%) avec une composition élémentaire correspondant à un équivalent de 1.5 gDCO/gPNP (en considérant que le nitrate est converti en nitrite).

1.1.3.3. Conduite générale des procédures d'acclimatation

Le réacteur biologique a été initialement ensemencé par un volume ($V=2$ litres) de boues activées. Après la première addition de *p*-NP (seul ou en mélange avec le substrat biogénique), le temps suffisant est laissé à la biomasse afin de dégrader la totalité du composé inhibiteur. La phase de dégradation effective du *p*-NP additionnée de la phase de retard de réponse, a duré en tout entre 20 et 80 heures (en fonction de la nature des boues et de la quantité de *p*-NP). Ensuite des additions successives de substrat sont effectuées pour enrichir la culture. Le substrat en solution est injecté automatiquement dans le réacteur à l'aide d'une pompe péristaltique (injection en batch rapide d'environ 16 secondes). Les injections ont eu lieu lorsque le rO_2 descendait en dessous d'une valeur seuil prédéfinie, qui

indique la fin de la dégradation du *p*-NP présent (le rO_2 retourne à sa valeur de respiration endogène). Le nombre d'injections par jour, les temps d'injection et le volume ont été suivis. Différents cycles d'acclimatation ont été étudiés en faisant varier le rapport d'alimentation entre le substrat facilement biodégradable et le substrat inhibiteur ($R=[S_S]/[p\text{-NP}]$), et/ou la charge appliquée (Tableau II.2).

Tableau II.2 : Caractérisation des procédures d'acclimatation au *p*-NP

Cycle	1	2	3	4	5
Concentration par injection (mgDCO.l ⁻¹)	460	435	300	75	75
Rapport des substrats $R=[S_B]/[S_{Inh}]$ (gDCO.gDCO ⁻¹)	6.60	2.20	1	0	0
Charge organique finale (mgDCO _{PNP} .l ⁻¹ .j ⁻¹)	207	550	700	1490	
Estimation de $S_{Inh0}/(X_{IHO})_0$ final (gDCO _{PNP} .gMVS ⁻¹)	0.80	0.53	0.33	0.09	
S_{Inh0}/X_0 final (gDCO _{PNP} .gMVS ⁻¹)	0.06	0.09	0.13	0.08	

Les cycles 1 à 4 ont été conduits en batch, alors que le cycle 5 a été conduit en SBR.

On considère que l'acclimatation devient effective, lorsque la durée de dégradation du *p*-NP est stabilisée, ce qui a été observé après 80 à 200 heures après la première injection pour les différents cycles. A la fin de chaque cycle d'acclimatation, lorsque la biomasse est acclimatée, des apports de *p*-NP ont eu lieu. Pour les cycles 1 à 4 les injections ont été effectuées dans le but d'en étudier la cinétique, alors que après le cycle 5 le réacteur a été alimenté en continu afin de valider le modèle mathématique proposé ultérieurement.

1.1.3.4. Exploitation des respirogramme

Lors de la croissance bactérienne en aérobie, la répartition de la matière organique selon les voies cataboliques (oxydation) et anabolique (synthèse) est caractérisée par le rendement de conversion Y . Ce dernier peut être utilisé dans les bilans d'oxydoréduction et permet de relier la pollution éliminée et la consommation d'oxygène. La vitesse de consommation de l'oxygène rO_2 est aussi directement liée à la croissance cellulaire par le rendement de conversion Y . Un rendement de conversion observé peut donc être calculé à partir de l'équation simplifiée suivante :

$$Y_{obs} = 1 - \frac{\int_{t=inj}^{t_{endo}} (rO_2 - rO_{2_{endo}}) dt}{([S]_{t=0} - [S]_{t_{endo}})}$$

Équation II.2

Par conséquent, la vitesse de dégradation et la vitesse de consommation d'oxygène sont liées à celles de la croissance par le rendement de conversion :

$$rO_2 = (1 - Y).r_x$$

Équation II.3

De plus, à partir des données de rO_2 en fonction du temps, il est possible de tracer un autre l'allure de l'évolution de la respiration biologique rO_2 avec la concentration résiduelle en substrat présente dans le réacteur. Pour ce faire, la concentration en substrat doit être calculée en chaque instant t suivant l'Équation II.4

$$S(t) = S_{t=0} - \frac{1}{1 - Y} \int_0^t \frac{dO_2}{dt} dt$$

Équation II.4

2. Techniques analytiques

2.1. Chromatographie à haute performance : HPLC

De manière générale la chromatographie est une méthode analytique permettant soit de séparer, soit purifier les différents composés présents dans un mélange, rendant ainsi possible leur identification et leur dosage. Le système analytique effectuant ces travaux est appelé système de phase et comporte une phase dite stationnaire généralement solide et une phase mobile liquide. Le mélange à analyser est injecté dans le système, puis transporté par l'éluant (phase mobile) au travers de la colonne analytique (phase stationnaire). A l'intérieur de cette colonne, les différentes molécules sont plus ou moins retenues, suivant leur affinité, ou adsorbées à la surface de la phase stationnaire ce qui aboutit à une séparation.

Chaque pic apparaissant sur le chromatogramme est assimilé à Gaussienne et représente l'éluion d'un produit pur.

Le chromatographe utilisé : HPLC Hewlett Packard Modèle 1050 couplé à un ordinateur pour l'intégration des pics. Le chromatographe est équipé d'une colonne en phase

inverse (EQUISORB ODS-2) C-18 de 25 cm de longueur. La détection est réalisée par spectrométrie UV.

- Composition de l'éluant :

- eau.....56%
- acétonitrile34%
- méthanol10%

- Température de la colonne:45°C

- Longueur d'onde de détection:310 nm

- Débit de la pompe d'alimentation :1ml.mn⁻¹

- Temps de rétention de la colonne correspondant au *p*-NP:4.6 min

Les échantillons sont filtrés sur des membranes en nitrate de cellulose de porosité 0.2 µm. Pour chaque analyse un échantillon d'au moins 60µL a été injecté dans la boucle d'injection ayant pour capacité 20µL (le surplus est récupéré dans une fiole). Les résultats recueillis sur les chromatogrammes sont sous forme de surfaces (des pics intégrés). Les surfaces sont transformées en concentrations en *p*-NP grâce à la courbe d'étalonnage préalablement établie. Chaque échantillon a été injecté au moins 2 fois et la moyenne des résultats a été retenue.

2.2. Observation microscopique

Afin d'identifier visuellement la structure des flocs existants ou encore la présence de micro-organismes non impliqués directement dans l'oxydation du substrat, des observations microscopiques des boues ont été réalisées grâce à un microscope photonique binoculaire Biomed-Leitz® (objectifs x4, x10, x25, x100 – objectifs à immersion ; oculaires x12,5).

Une caméra Burle® placée sur le microscope et reliée à un ordinateur permet de photographier et numériser les observations. Pour les observations (état frais), les échantillons ont été placés entre lame et lamelle et observés au microscope photonique sans coloration.

2.3. Autres méthodes analytiques

Des analyses physico-chimiques ont été réalisées suivant des méthodologies normalisées (AFNOR (1994)) couramment utilisées pour l'analyse des eaux et présentées dans le Tableau II.3.

Tableau II.3 : Méthodes analytiques normalisées

Analyse	Echantillon	Méthode et appareillage	Norme
DCO soluble	Substrat	Filtration (filtres nylon 0,2µm)	NFT 90.101
	Liqueur mixte	Oxydation au dichromate de potassium,	
	Effluent	dosage en retour au sel de Mohr	
MES et MVS	Substrat	Préfiltres en fibre de verre Gelman type AP20 (seuil de rétention : 2 à 10 µm)	NFT 90.105
	Liqueur mixte		
	Effluent		
	Boues	Centrifugation 15' à 3900g	

3. Méthodes de fiabilisation des procédés

3.1. Modélisation et simulation

En fonction des éléments trouvés dans la bibliographie et des résultats expérimentaux, nous avons pu mettre au point un modèle mathématique, permettant de simuler la vitesse de consommation d'oxygène par deux populations de biomasse hétérotrophe, en présence d'un substrat et/ou d'un inhibiteur.

Le processus a été modélisé par un système d'équations différentielles non-linéaires. Une fois le modèle établi, une procédure d'identification des paramètres de ce dernier a été mise au point, à partir des résultats expérimentaux.

Cela a permis de simuler chaque courbe respirométrique ($rO_2 = f(t)$), ainsi que l'évolution au cours du temps des concentrations en substrat, en biomasse, et en inhibiteur.

Les paramètres identifiables ont été déterminés par la transformation du modèle non linéaire en un modèle linéaire vis à vis des paramètres.

La résolution du modèle et l'identification de ses paramètres cinétiques a été effectuée à l'aide des logiciels GPS-X 4.02 (Hydromantis and Inc., 2002) et Matlab 7.0.1. Les équations différentielles ont été résolues numériquement par la méthode de Runge-Kutta. Le profil simulé du rO_2 a été fitté automatiquement aux données expérimentales correspondantes avec la méthode du simplexe de Nelder-Mead, en minimisant au sens des moindres carrés de la fonction objective $f = \sum_{i=1}^n (rO_{2,exp}(i) - rO_{2,simul}(i))^2$ par l'ajustement des valeurs des paramètres cinétiques inconnus (Dochain et al., 1995).

3.2. Optimisation multiobjectif

3.2.1. Stratégie d'optimisation

La procédure d'optimisation du procédé décrit par le model mathématique développé, se compose de deux étapes.

D'abord, le domaine de Pareto est généré, où un grand nombre de toutes les solutions possibles approche des optimums. En utilisant le concept de la dominance de Pareto, le problème d'optimisation pourrait avoir lieu dans des intervalles de variation des paramètres opératoires bien définis, ce qui engendre une zone optimale contenant la ou les solution(s).

Une fois les critères contradictoires sont déterminés pour chacune des entrées possibles, ils sont comparés deux à deux, les points dominés sont alors éliminés et remplacés par de nouveaux points qui une combinaison des points non-dominés et des points dominés. Enfin, un ordonnancement est établi et la première meilleure solution est sélectionnée.

3.2.1.1. Approximation du domaine de Pareto

Le domaine de Pareto représente un ensemble de conditions de fonctionnement rapportant les solutions qui peuvent servir d'optimum, selon l'importance relative placée dans chacun des objectifs. Ces critères objectifs sont fournis par le décideur.

Un point dans l'espace faisable de critères s'appelle un point optimal de Pareto s'il n'existe aucun autre point dans cet espace qui apporterait une amélioration d'un critère sans causer une dégradation dans l'autre critère. Pour établir ce domaine la procédure décrite ci-dessous est utilisée (Halsall-Whitney *et al.*, 2003) :

Etape 1 : Mise en place de l'espace de décision

Initialement M points sont générés. Pour chaque critère, une valeur est choisie aléatoirement à partir de son intervalle de variation. Le modèle est alors intégré pour cet ensemble afin de déterminer les valeurs critères objectifs correspondant au vecteur de sortie.

Etape 2 : Classement des points

D'abord un rang = 0 est attribué à tous les M points. Ensuite, tous les points sont comparés deux par deux pour déterminer le nombre de fois où un point a été dominé. Un

point est dominé par les autres, quand tous les critères évalués pour ce point sont plus mauvais que ceux pour l'autre point. Chaque fois qu'un point est dominé par un autre, son rang est incrémenté par la valeur : 1. Les points qui n'ont jamais été dominés gardent un rang = 0. Enfin, les points sont classés dans l'ordre de leur rang de dominance.

Etape 3 : Processus de sélection

Tous les points non-dominés N_0 sont sélectionnés avec une fraction des points dominés dont la fréquence de la domination est basse. Cette fraction est imposée par la fraction de survie F_s . Ainsi une nouvelle approximation au domaine de Pareto est mise en place selon la loi suivante :

$$N = N_0 + INT[F_s(M - N_0)] \quad \text{Équation II.5}$$

Où $INT(x)$ est la partie entière de x .

Etape 4 : Génération de points non-dominés

Les $(M-N)$ points dominés, qui ont été éliminés pendant le procédé de sélection, sont remplacés par de nouveaux générés par un algorithme évolutionnaire, développé par Perrin et al., (1997). Cet algorithme est basé sur une technique utilisant la génétique des individus diploïdes comme le montre l'Équation II.6

$$I_{p,k}^n = \alpha_p I_{p,i}^n + (1 - \alpha_p) I_{p,j}^n \quad \text{Équation II.6}$$

Où :

$I_{p,k}$: est un nouveau point généré,

$I_{p,i}$: est un point non-dominé choisi d'une manière aléatoire,

$I_{p,j}$: est un point sélectionné à partir des point dominés et maintenu dans la génération précédente,

α_p : est un nombre choisi d'une manière aléatoire entre 0 et 1. Une nouvelle valeur de α_p est choisie à chaque nouvelle entrée,

n : est le nombre de critères.

Enfin, les étapes (1) à (4) sont répétées jusqu'à produire M points non-dominés qui sont supposés approximer le domaine de Pareto.

Résultats et Discussions

Chapitre III : Etude des paramètres cinétiques
d'une population mixte dégradant du *para*-
nitrophenol. Variabilité due à
l'acclimatation.

1. Introduction

L'étude bibliographique a révélé que la dégradation des molécules chimique inhibitrice par des microorganismes met en jeu un certain nombre de phénomènes assez complexes. Plus précisément lorsqu'il s'agit d'un consortium de microorganismes provenant de boues activées, dont la nature et l'historique sont difficiles à déterminer. Une telle biomasse oscille en permanence entre deux états : acclimatation et désacclimatation. S'agissant dans cette étude d'une molécule de type phénolé lentement biodégradable (le *para*-nitrophénol), ces deux états traduisent la potentialité de la biomasse à dégrader plus ou moins rapidement l'inhibiteur.

L'objectif de ce chapitre est d'étudier l'effet des conditions opératoires d'une phase d'acclimatation sur les paramètres cinétiques d'une culture mixte dégradant le *p* NP.

La modification de la charge organique et la présence de différentes quantités de substrat facilement biodégradable sont les principales actions effectuées au niveau d'un procédé à boues activées afin d'en étudier les conséquences. Des changements dynamiques des paramètres cinétiques, pendant le processus d'acclimatation, et pendant la période de carence, sont également étudiés. Un modèle mathématique spécifique est employé pour décrire dans le détail les réponses dynamiques observées des boues activées.

2. Modélisation mathématique

Un modèle mathématique a été utilisé afin de décrire les cinétiques du procédé. Ce modèle a été développé pour caractériser le comportement cinétique de la biomasse dégradant le *p*-NP dans une culture mixte. On supposera la co-existence de deux populations hétérotrophes au sein de la culture mixte :

- Une population capable de dégrader le *p*-NP : X_{IHO} ;
- Une population incapable de dégrader le *p*-NP, se développant plutôt sur un substrat facilement biodégradable : X_{OHO} .

Tout d'abord, le modèle mathématique inclut le décès de la biomasse hétérotrophe non acclimatée (X_{OHO}) (Équation III.1). Considérant dans ce travail, le *p*-NP comme unique source de carbone pour tous les essais expérimentaux, la croissance de cette biomasse n'a pas été introduite dans ce modèle. Puis la seconde équation (Équation III.2) basée sur le modèle de Haldane (Équation III.5; Haldane, 1965), décrit la croissance et le décès de la biomasse acclimatée (X_{IHO}). Ensuite, l'Équation III.3 suggère que la totalité du *p*-NP est

oxydée ou convertie en de nouvelles cellules par la biomasse spécifique (X_{IHO}) sans faire de stockage intracellulaire sous une forme différente de carbone. Enfin la vitesse de consommation d'oxygène (rO_2) exprime l'activité respiratoire totale des boues activées. L'activité respiratoire exogène ($rO_{2,exo}$) augmente par oxydation du *p*-NP. Il est nécessaire de considérer le phénomène de maintenance pour décrire l'activité respiratoire endogène totale ($rO_{2,endo}$) engendrée simultanément par l'activité relative de chacune des deux populations microbiennes. Cette dernière décroît avec la biomasse hétérotrophe non acclimatée. L'activité respiratoire endogène de la biomasse acclimatée est sensée être inhibée par la présence du *p*-NP suivant un modèle classique d'inhibition non compétitive ($k/(k+ S_{Inh})$). Toutefois, il semble improbable que la présence de l'inhibiteur puisse réduire le décès des bactéries hétérotrophes, d'autre part elle inhibe la respiration endogène due au métabolisme de maintenance. Une expérience spécifique a été conduite dans le but d'élucider ce phénomène (paragraphe 3.1). Il est important de remarquer que du moment que la biomasse spécifique (X_{IHO}) a été acclimatée au *p*-NP, son activité respiratoire endogène ne devrait pas être inhibée par cet inhibiteur. Le taux de maintenance ainsi que la respiration endogène des deux biomasses sont décrites par un formalisme, communément utilisé, basé sur un coefficient de maintenance (m) et la fraction inerte (fx_u) (Marais et Ekama, 1976 ; Gujer et *al.*, 1999 ; Ni et Yu, 2008).

$$\frac{dX_{OHO}}{dt} = -b_{OHO} \cdot X_{OHO} \quad \text{Équation III.1}$$

$$\frac{dX_{IHO}}{dt} = \mu_{IHO} \cdot X_{IHO} - b_{IHO} \cdot X_{IHO} \quad \text{Équation III.2}$$

$$\frac{dS_{Inh}}{dt} = -\frac{\mu_{IHO}}{Y_{Inh,IHO}} \cdot X_{IHO} \quad \text{Équation III.3}$$

$$rO_2 = \underbrace{\frac{1-Y_{Inh,IHO}}{Y_{Inh,IHO}} \cdot \mu_{IHO} \cdot X_{IHO}}_{rO_{2,exo}} + \underbrace{m_{IHO} \cdot (1-fx_{u,IHO}) \cdot X_{IHO} + m_{OHO} \cdot \left(\frac{k}{k+S_{Inh}} \cdot (1-fx_{OHO}) \right) \cdot X_{OHO}}_{rO_{2,endo}} \quad \text{Équation III.4}$$

$$\mu_{IHO} = \mu_{IHO,max} \frac{S_{Inh}}{S_{IInh} + K_{S,S_{Inh,IHO}} + \frac{S_{Inh}^2}{K_{I,IHO}}} \quad \text{Équation III.5}$$

Les paramètres du modèle ont été identifiés en se basant sur les données expérimentales collectées lors des essais conduits en batch dans le procédé à boues activées avec comme seule source de carbone : le *p*-NP. A la fin de chaque cycle d'acclimatation, les essais en batch ont été conduits à faibles rapports ($S_{Inh,0}/(X_{IHO})_0$) (rapport du substrat aux microorganismes) ($S_{Inh,0}/(X_{IHO})_0 < 0.13 \text{ gDCO.gMVS}^{-1}$, Tableau III.1). Sous de telles conditions, un nombre précis de paramètres cinétiques sont structurellement identifiables (Dochain et al., 1995 ; Spérandio et Paul, 2000), en se basant sur les mesures expérimentales du rO_2 . D'après les démonstrations de Dochain et al. 1995, on déduit l'identifiabilité structurelle des groupes de paramètres suivants : $(1-Y_{Inh,IHO}) \cdot S_{Inh}(0)$; $(1-Y_{Inh,IHO}) \cdot K_{S,SInh,IHO}$; $(1-Y_{Inh,IHO}) \cdot K_{I,IHO}$; $\mu_{IHO,max} \cdot X_{IHO}(0) \cdot (1-Y_{Inh,IHO}) / Y_{Inh,IHO}$; $(m_{IHO} \cdot (1-f_{x_{uIHO}}) \cdot X_{IHO}(0) + m_{OHO} \cdot (k/(k+1)) \cdot (1-f_{x_{uOHO}})) \cdot X_{OHO}(0)$. Puisque la quantité de *p*-NP injecté dans le bioréacteur est toujours connue, $Y_{Inh,IHO}$ est indépendamment identifiable pour chaque réponse et par conséquent $K_{I,IHO}$, $K_{S,SInh,IHO}$ sont aussi identifiables.

Tableau III.1 : Caractérisation des procédures d'acclimatation au *p*-NP

Cycle	1	2	3	4
Concentration par injection (mgDCO.l ⁻¹)	460	435	300	75
Rapport des substrats $R = S_B/S_{Inh}$ (gDCO.gDCO ⁻¹)	6.60	2.20	1	0
Durée (h)	170.57	148.22	112.27	86.19
Caractérisation de la fin des cycles d'acclimatation : initialisation des tests cinétiques				
X_0 (mgCOD.l ⁻¹)	937.42	1179.46	691.54	1015.34
X_{IHO} (mgCOD.l ⁻¹)	69.11	206.03	275.61	793.10
Charge organique finale (OLR) (mgDCO _{PNP} .l ⁻¹ .j ⁻¹)	207	550	700	1490
Estimation de $S_{Inh,0}/(X_{IHO})_0$ final (gDCO _{PNP} .gMVS ⁻¹)	0.80	0.53	0.33	0.09
$S_{Inh,0}/X_0$ final (gDCO _{PNP} .gMVS ⁻¹)	0.06	0.09	0.13	0.08

Le décès de la biomasse hétérotrophe se produit à taux constant (b_{OHO}), il en résulte une fraction (f_{xu}), de la biomasse, transformée en produit inerte (Henze et *al.*, 1987). La simulation des modèles AS, en régime permanent ou dynamique tels que ASM1, 2 et le 2d a été développée à partir de mesures expérimentales effectuées sur des eaux usées réelles, employant la respiration endogène des organismes hétérotrophes ordinaires ($b_{OHO}=0.24 \text{ j}^{-1}$) (Ekama et *al.*, 2007). Typiquement, environ 20% de la biomasse formée est supposée contribuer à la fraction inerte et par conséquent, une valeur de 0,20 est habituellement donnée à (f_{xu}) dans les modèles traditionnels (Henze et *al.*, 1987).

Pour les besoins de la simulation les coefficients de maintenance (m_{IHO} et m_{OHO}) sont aussi considérés égaux à 0.24 j^{-1} .

3. Validation du modèle

3.1. Biomasse non acclimatée

La Figure III.1 illustre un profil typique du *p*-NP inhibant la respiration endogène d'un échantillon de biomasse avant acclimatation. Lors de l'injection du *p*-NP dans les boues activées pour la première fois comme monosubstrat, l'activité endogène décroît proportionnellement à l'augmentation de la concentration du *p*-NP. Le dosage du *p*-NP, à l'aide d'une spectrométrie HPLC/UV, en parallèle a confirmé qu'il n'y a pas biodégradation de ce dernier. L'Équation III.4 du modèle a été simplifiée par le fait que la biomasse acclimatée au *p*-NP ne peut pas être présente dans les boues d'une manière significative ($X_{IHO} \approx 0$). De ce fait, le rO_2 mesuré n'est du qu'à l'activité de la biomasse non acclimatée (X_{OHO}). Le rO_2 théorique peut donc être exprimé comme une fonction de la concentration de

l'inhibiteur et de la valeur de k : $rO_2 = \frac{k}{k + S_{Inh}} rO_{2,endo}^{max}$ ($rO_{2,endo}^{max} = m_{OHO}(1 - f_{xu_{OHO}})X_{OHO}$, i.e.

activité respiratoire avant injection du *p*-NP). On observe à travers la Figure III.1 que la simulation du modèle est en adéquation avec les données expérimentales en prenant la valeur de $k=115\text{mgDCO.l}^{-1}$

La valeur de k correspond à la concentration de l'inhibiteur qui abaisse de 50% l'activité respiratoire. Cette valeur est du même ordre de grandeur que le paramètre standard : EC_{50} mesurée par Reynolds et *al.*, 1987 ; Kwan, 1988 ; Volskay et Grady, 1988 et Ricco et *al.*, (2004) suivant la méthode standard OECD Method 209 et variant entre 88.5 et 225mgDCO.l⁻¹.

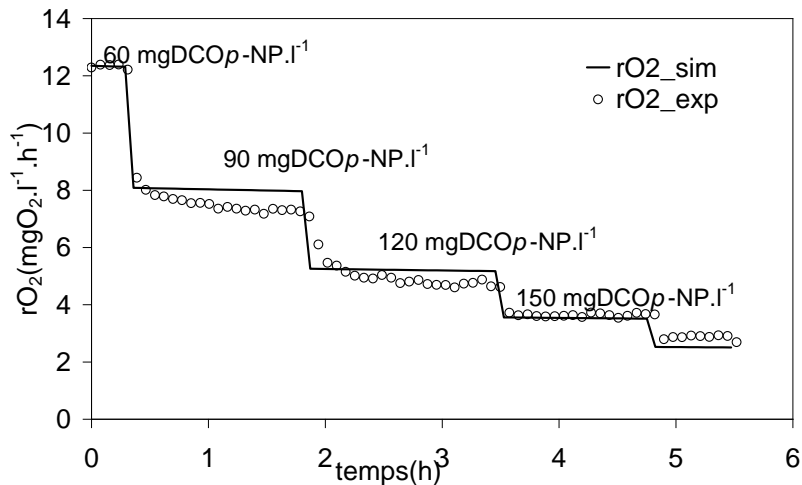


Figure III.1 : Activité endogène spécifique d'une biomasse non acclimatée lors de l'injection du *p*-NP (60 $mgDCO.l^{-1}$, 90 $mgDCO.l^{-1}$, 120 $mgDCO.l^{-1}$ et, 150 $mgDCO.l^{-1}$). Résultats expérimentaux et simulés avec $k= 115 mgCOD.l^{-1}$.

3.2. Biomasse acclimatée

A la fin de la période d'acclimatation, la Figure III.2 montre un exemple typique d'une réponse de la biomasse à un ajout de *p*-NP (110 $mgDCO.l^{-1}$). La vitesse de consommation d'oxygène augmente rapidement de 9.44 (valeur de la respiration endogène) à 24.34 $mgO_2.l^{-1}.h^{-1}$ et le substrat est progressivement dégradé en 4.8 heures. L'activité respiratoire, ainsi que la vitesse de dégradation du substrat croissent progressivement pendant que la concentration du substrat décroît. Cette observation est typique d'une inhibition par le substrat.

Si on ne considère qu'une seule réponse, ce profil pourrait être interprété par la levée progressive de l'inhibition due à la consommation progressive du substrat, ou par la croissance progressive de la biomasse spécifique dégradant l'inhibiteur. Cependant, concernant les données expérimentales présentées, du moment que la quantité de substrat ajoutée après une longue période d'acclimatation significative, la croissance cellulaire observée n'est pas significative. En outre, une réponse identique a été observée lors d'un deuxième ajout, ce qui prouve que l'inhibition par le substrat n'est pas le seul mécanisme expliquant un tel profil.

La Figure III.2 montre que le modèle, qui a été ajusté uniquement aux valeurs expérimentales du rO_2 , prédit simultanément et avec précision, le profil expérimental du *p*-NP. Lors des premières minutes de l'essai, le profil théorique du rO_2 ne prédit pas les quatre

premiers points expérimentaux du rO_2 observés tout de suite après l'injection du *p*-NP effectuée à $t=0h$. Ceci pourrait être expliqué, soit par les réponses dynamiques des chaînes respiratoires des bactéries quand *p* NP a augmenté brusquement dans le milieu (puisque le *p*-NP est connu pour être un découplant énergétique (Low et Chase, 1998)), soit par la réduction simultanée de l'activité de bactéries non acclimatées qui coexisterait encore dans cette culture. Quoiqu'il en soit, cette discordance n'a pas d'impact sur la qualité du modèle pour prédire la dégradation du *p*-NP. Ainsi une cinétique unique conduite en batch est bien décrite par un modèle de type Haldane (Haldane, 1965).

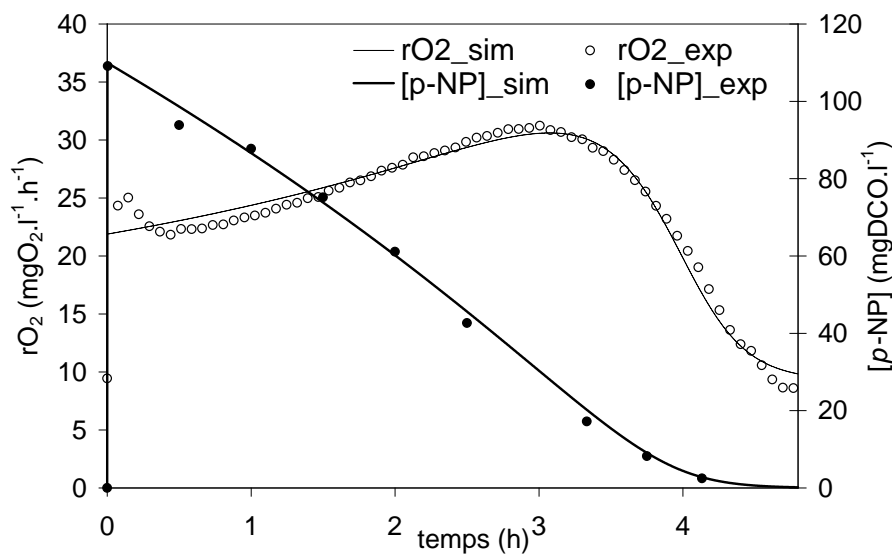


Figure III.2 : Profils typiques de la vitesse de consommation d'oxygène et du *p*-NP d'une cinétique conduite en batch suivant une période d'acclimatation. Données expérimentales et simulées ($\mu_{IHO,max} = 1.48 \pm 0.02 j^{-1}$, $K_{I,IHO} = 101.0 \pm 2.8 mgDCO.l^{-1}$, $K_{S,SInh,IHO} = 11.40 \pm 0.48 mgDCO.l^{-1}$)

4. Paramètres cinétique d'une biomasse acclimatée

Le Tableau III.2 résume les paramètres cinétiques estimés à la fin de chaque procédure d'acclimatation. L'ensemble des paramètres obtenus est dans le même ordre de grandeur que les données récoltées dans la littérature (Dang et *al.*, 1989 ; Ray et *al.*, 1999 ; Xing et *al.*, 1999 ; Bhatti et *al.*, 2002 ; Tomei et *al.*, 2003 ; Tomei et *al.*, 2004).

Tableau III.2 : Les paramètres cinétiques identifiés à la fin de la procédure d'acclimatation.

Cycle	$Y_{Inh,IHO}$ gDCO.gDCO ⁻¹	$K_{S,SInh,IHO}$ mgDCO.l ⁻¹	$K_{I,IHO}$ mgDCO.l ⁻¹	$\mu_{IHO,max} \cdot X_{IHO}(0) / Y_{Inh,IHO}$ mgDCO.l ⁻¹ .j ⁻¹	$\mu_{IHO,max}$ j ⁻¹
1	0.45 ± 0.02	1.21 ± 0.02	289.7 ± 4.6	239.03 ± 65.32	1.09 ± 0.01
2	0.39 ± 0.01	11.40 ± 0.48	101.0 ± 2.8	780.43 ± 30.63	1.48 ± 0.02
3	0.52 ± 0.03	5.97 ± 3.34	72.4 ± 37.8	1104.91 ± 148.42	1.89 ± 0.45
4	0.63 ± 0.02	4.03 ± 1.47	115.4 ± 77.3	2660.44 ± 560.54	2.01 ± 0.43

Concernant le rendement de conversion $Y_{Inh,IHO}$, les valeurs varient entre 0.39 ± 0.013 et 0.63 ± 0.02 gDCO_X.gDCO_{PNP}⁻¹, et ce paramètre stoechiométrique paraît plus élevé quand la quantité de substrat facilement biodégradable est faible ou nulle (cycles 3 et 4). Ce qui pourrait être expliqué par le phénomène de cométabolisme développé par la biomasse non acclimatée (X_{OHO}) en présence d'une quantité importante de *p*-NP. Par conséquent, cette biomasse n'est pas capable d'utiliser le *p*-NP comme unique source de carbone avec un métabolisme efficace. Dans ce cas (cycles 1 et 2), une grande fraction de *p*-NP est dédiée au catabolisme et $Y_{Inh,IHO}$ diminue. Au contraire lorsque la biomasse est acclimatée au *p*-NP comme unique source de carbone (ou à de faibles concentration de substrat facilement biodégradable), les microorganismes sont capables d'utiliser le *p*-NP uniquement pour leur anabolisme, nécessitant moins d'énergie, et par conséquent $Y_{Inh,IHO}$ augmente (cycles 3 et 4). On pourrait aussi penser au mécanisme découplage qui serait accentué par la présence d'un substrat facilement biodégradable, réduisant par conséquent le rendement de conversion. Des travaux antérieurs menés par Chudoba et *al.*, 1992 ont montré que le rendement de conversion pourrait être influencé par le rapport $S_{Inh,0} / (X_{IHO})_0$ en culture batch ou par le débit d'alimentation en culture continue. Mais dans cette étude, les expériences ont été réalisées à faible $S_{Inh,0} / (X_{IHO})_0$ dans le but de minimiser les effets de variation de la biomasse durant chaque expérience en batch contre la levée d'inhibition. Ce rapport varie quand même dans un faible intervalle entre 0.09 et 0.80 gDCO_{PNP}.gMVS⁻¹.

A la fin de l'acclimatation, la vitesse maximale de dégradation du substrat ($\mu_{IHO,max} \cdot X_{IHO}(0) / Y_{Inh,IHO}$) dépend la charge organique. Celle ci varie de 239 à 2660 mgDCO.l⁻¹.j⁻¹; les valeurs les plus élevées sont obtenues pour le cycle d'acclimatation où le *p*-NP a été présenté comme unique source de carbone. Si on considère que chacun des substrats a été

dégradé indépendamment, le rapport initial entre les deux biomasses serait proportionnel au rapport entre les deux flux d'alimentation du réacteur avant chaque essai expérimental (R) corrigé par le rapport des rendements de conversion respectifs :

$$\frac{X_{IHO}(0)}{X_{OHO}(0)} = \frac{1}{R} \cdot \frac{Y_{Inh,IHO}}{Y_{OHO}} \quad \text{Équation III.6}$$

Pour cette expression (Équation III.6) et à partir des groupes de paramètres identifiables, il s'en suit que $X_{IHO}(0)$, $X_{OHO}(0)$ et $\mu_{IHO,max}$, pourraient être estimés pour chaque expérience conduite en batch du moment que $Y_{Inh,IHO}$ et Y_{OHO} sont identifiés expérimentalement au tout début du cycle d'acclimatation. Et ce en se basant sur l'Équation III.3 et l'Équation III.4 :

$$rO_{2,exo} = \frac{dO_{2,exo}}{dt} = (1 - Y_{Inh,IHO}) \cdot \frac{dS_{Inh}}{dt} \quad \text{Équation III.7}$$

L'intégration de l'équation différentielle précédente dans un intervalle de temps correspondant à la durée nécessaire pour la consommation complète du *p*-NP conduit à l'Équation III.8 :

$$\Delta O_{2,exo} = (1 - Y_{Inh,IHO}) \cdot \Delta S_{Inh} \quad \text{Équation III.8}$$

Où $\Delta O_{2,exo}$ est la quantité totale d'oxygène consommée pour oxyder le substrat et ΔS_{Inh} est la quantité totale de *p*-NP oxydé. $Y_{Inh,IHO}$ est alors déduit à partir de chaque injection du substrat synthétique biogénique comme unique source de carbone.

Pour chaque injection, la concentration de la biomasse totale initiale est estimée suivant l'Équation III.9 en considérant que la totalité du *p*-NP a été dégradé avant la réinjection. (à $t=0$, $S_{Inh} = 0 \Rightarrow \mu_{IHO} = 0 \Rightarrow rO_{2,exo} = 0$ et $rO_2(0) = rO_{2,endo}(0)$) et l'Équation III.4 donne :

$$rO_2(0) = m_{IHO} \cdot (1 - f_{X_{uIHO}}) \cdot X_{IHO}(0) + m_{OHO} \cdot (1 - f_{X_{uOHO}}) \cdot X_{OHO}(0) = m_{OHO} \cdot (1 - f_{X_{uOHO}}) \cdot (X_{IHO}(0) + X_{OHO}(0))$$

$$\text{donc : } X(0) = (X_{OHO}(0) + X_{IHO}(0)) = \frac{rO_{2,endo}(0)}{m_{OH} \cdot (1 - f_{X_{uOHO}})} \quad \text{Équation III.9}$$

Lorsqu'on considère une série d'expériences en batch, le rapport entre les concentrations des deux biomasses obtenu à la fin de la cinétique simulée est utilisé pour initialiser la biomasse de la cinétique de l'injection suivante.

Mis à part la première injection, l'estimation des valeurs initiales $X_{IHO}(0)$ et $X_{OHO}(0)$ de chaque ajout de *p*-NP est déduite des valeurs finales simulées de l'injection précédente. Les fractions finales (X_{IHO}/X et X_{OHO}/X) sont alors calculées et considérées égales aux fractions initiales de l'injection suivante. Une fois ces fractions connues et $X(0)$ estimée à partir de l'Équation III.9, $X_{IHO}(0)$ et $X_{OHO}(0)$ sont déduites d'après l'Équation III.6.

Le taux de croissance spécifique maximal $\mu_{OHO,max}$ a été significativement modifié par les conditions opératoires de l'acclimatation. La valeur de ce paramètre cinétique varie de 2.01 à 1.09 lorsque le rapport des substrats ($R=[S_B]/[S_{Inh}]$) passe de 0 à 6.6 comme cela a été reporté par le Tableau III.2. Ces résultats tendent à montrer que l'augmentation de la quantité du substrat facilement biodégradable (pendant le cycle d'acclimatation) induit une baisse du taux de croissance spécifique maximal lorsque le *p*-NP est injecté comme unique source de carbone (à la fin de l'acclimatation). En outre, on pourrait supposer que le phénomène de cométabolisme fait que le $\mu_{IHO,max}$ des microorganismes acclimatés à une source mixte de carbone (cycles 1, 2 et 3) serait plus faible lorsqu'on présente à cette même culture du *p*-NP seul dans un but d'identification paramétrique. Dans ce cas on pourrait conclure que la présence d'une autre source de carbone qui est facilement biodégradable, favorise le phénomène de cométabolisme. La biomasse dégradant le *p*-NP est donc sous-estimée, et par conséquent le $\mu_{IHO,max}$ est surestimé.

Si on avance l'hypothèse que l'acclimatation est effectivement atteinte lorsqu'on présente à la culture en question le *p*-NP seul, le phénomène de cométabolisme ne peut plus avoir lieu. La Figure III.3 illustre l'évolution des valeurs estimées de $X_{IHO}(0)$ et $X_{IHO}(0)/X(0)$ obtenues les deux derniers jours de la procédure d'acclimatation effectuée avec le *p*-NP comme unique source de carbone (cycle 4). A $t=53.47$ h, $X_{IHO}(0)=286.48$ mgDCO.l⁻¹, et cette valeur a quasiment doublé en 32.72 heures, pendant que la fraction $X_{IHO}(0)/X(0)$ est passée de 0.53 à 0.78.

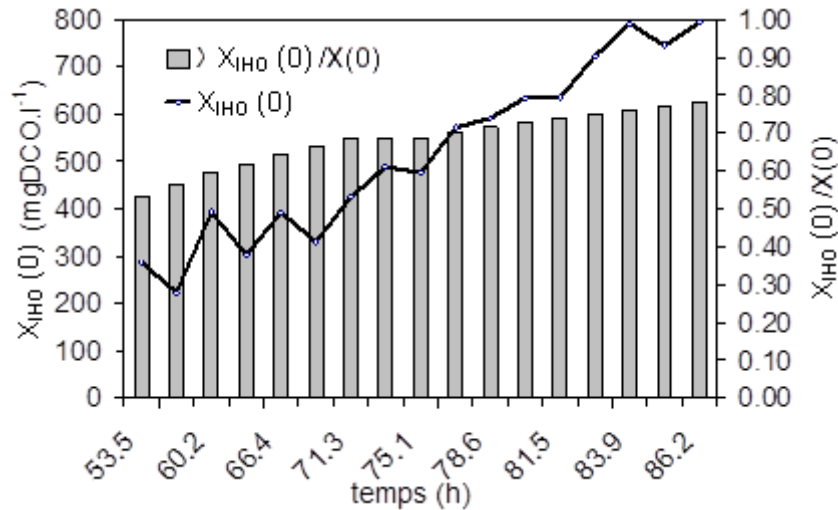


Figure III.3 : Evolution de la fraction $X_{IHO}(0)/X(0)$ estimée obtenue pour les deux derniers jours du cycle 4.

Le Tableau III.3 illustre l'effet de la variation du rapport des substrats (R) sur la durée de dégradation du *p*-NP quand il est dégradé seul et quand il est mélangé en multisubstrat avec un substrat facilement biodégradable, par des boues acclimatées. Tout d'abord, on remarque que le *p*-NP est dégradé plus rapidement lorsqu'il est présenté seul. Ensuite on peut voir que plus la fraction de *p*-NP est grande dans le multisubstrat, plus la dégradation est rapide. Ces résultats pourraient confirmer notre hypothèse.

Tableau III.3 : Effet de la variation du rapport des substrats (R) sur la durée de dégradation du multisubstrat ($S_B + S_{Inh}$) et du monosubstrat (S_{Inh})

Cycle	$t_{S_B+S_{Inh}} (j)$	$t_{S_{Inh}} (j)$
1	0.44	0.33
2	0.17	0.15
3	0.14	0.12

Enfin, les valeurs estimées de $K_{S,S_{Inh},IHO}$ et $K_{I,IHO}$ varient respectivement de 1.21 ± 0.02 à 11.4 ± 0.48 mgDCO.l⁻¹, et de 72.4 ± 37.8 à 289.7 ± 4.6 mgDCO.l⁻¹. Toutefois, aucune tendance claire n'a été observée lors de la modification des conditions opératoires des cycles d'acclimation (quantité du substrat facilement biodégradable ou de la charge organique). Ces changements apparaissent plutôt liés à la dynamique du substrat et des

périodes de carence entre deux injections en batch et ces aspect vont être discutés dans ce qui suit.

4.1. Changements dynamiques des paramètres cinétiques et de la morphologie de la biomasse pendant l'acclimatation

La Figure III.4 (a) et (b) illustre des profils expérimentaux et simulés typiques de rO_2 obtenus pendant la procédure d'acclimatation (les deux derniers jours du cycle 4 avec du *p*-NP comme unique source de carbone). La procédure d'acclimatation conduit à l'augmentation générale de la vitesse de dégradation du *p*-NP atteignant une valeur de $40.56 \text{ gDCO}_{\text{PNP}} \cdot \text{g}^{-1} \text{VSS} \cdot \text{h}^{-1}$ après 81.46 heures. Simultanément et pendant la même période, la durée de dégradation décroît de 3.12 à 1.2 h. on estime que l'acclimatation proprement dite est atteinte à $t = 53.47 \text{ h}$, temps à partir duquel la durée de dégradation devient constante et se stabilise autour d'une valeur de 1.2 h. En effet, les deux premières durées de dégradation sont relativement longues et sont respectivement de 33.60 h et 16.56 h.

Pour chaque injection présentée dans la Figure III.4, aucune phase de retard n'a été observée, et la biodégradation du *p*-NP a débuté immédiatement après son introduction dans le bioréacteur. Les réponses rO_2 montrent une allure similaire à celle présentée par la Figure III.2 dans le paragraphe 3.2, typique d'une cinétique d'inhibition par le substrat.

La comparaison des profils successifs montre une augmentation de la valeur initiale du rO_2 ($rO_{2,\text{ini}}$), ainsi qu'une augmentation simultanée de la valeur maximale atteinte du rO_2 ($rO_{2,\text{max}}$). Malgré les profils comparables, le rapport entre $rO_{2,\text{max}}$ et $rO_{2,\text{ini}}$ diminue progressivement, et dans ce cas de 1.7 à 1.28. L'augmentation générale de l'activité pourrait être expliquée par la croissance des espèces bactériennes acclimatées. Comme la quantité de *p*-NP apportée à chaque fois est la même et est égale à $75 \text{ mgDCO} \cdot \text{l}^{-1}$, la diminution simultanée du rapport $rO_{2,\text{max}} : rO_{2,\text{ini}}$ pourrait être expliquée par la réduction du seuil d'inhibition. Par ailleurs, l'évolution de l'allure des vitesses spécifiques de croissance tout au long de l'acclimatation, montrée dans la Figure III.4 (b), conduit à des cinétiques de plus en plus similaires à la cinétique de Monod, 1942 (injection 18).

Ce comportement est confirmé par l'estimation des paramètres cinétiques. En effet, le modèle a été ajusté pour chaque profil respirométrique (Figure III.4) et l'estimation des paramètres $K_{S,\text{Sinh,IHO}}$ et $K_{I,\text{IHO}}$ a fortement changé pendant l'acclimatation (Figure III.5). Le coefficient de demi-saturation $K_{S,\text{Sinh,IHO}}$ décroît de 15-20 $\text{mgDCO} \cdot \text{l}^{-1}$ à 3.6 $\text{mgDCO} \cdot \text{l}^{-1}$; et $K_{I,\text{IHO}}$ croît de 20 à 200 $\text{mgDCO} \cdot \text{l}^{-1}$. D'après la Figure III.4 (b), on remarque que la baisse de $K_{S,\text{Sinh,IHO}}$ et l'augmentation de $K_{I,\text{IHO}}$ conduit à l'augmentation générale du taux de croissance spécifique aux fortes et faibles concentrations en *p*-NP. La baisse de la valeur de $K_{S,\text{Sinh,IHO}}$

pourrait s'expliquer par l'intensification de l'affinité entre les microorganismes et leur substrat, mais aussi par la réduction de la résistance au transfert de matière dans les flocs. L'augmentation de la valeur de $K_{i,IHO}$ est due à une levée progressive de l'inhibition. Ces deux phénomènes ont été observés d'une manière similaire par Ellis et *al.*, (1996) lors de l'acclimatation d'une biomasse de boues activées à un surfactant non-ionique. En revanche, on n'a pas observé de changements significatifs des valeurs du rendement de conversion $Y_{Inh,IHO}$ lors de l'acclimatation, aussi l'estimation du taux de croissance spécifique maximal $\mu_{IHO,max}$ n'a pas non plus montré un large variation (n'est pas montré ici vu la corrélation mathématique à $X_{IHO}(0)$ pendant l'acclimatation lorsqu'il y a croissance significative).

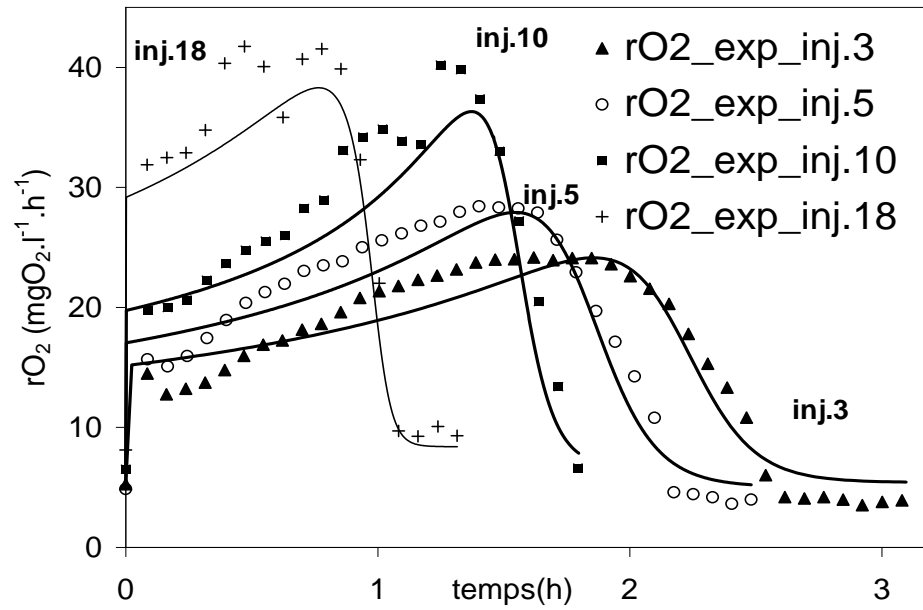
Lors d'une croissance sous des conditions proches de l'équilibre, il est possible que les bactéries puissent avoir la capacité d'altérer leur composition macromoléculaire (enveloppe cellulaire, protéines, ARN, et ADN) en réponse à leur environnement afin d'optimiser leur croissance. L'exemple typique rapporté par Sokol, 1987, a montré que les trois paramètres de l'équation d'Andrew, 1968 (μ_{max} , K_S , K_I) dépendaient du taux spécifique de croissance antécédent, à l'équilibre, dans un réacteur chemostat. Cependant dans la conduite de procédés successifs en batch, des conditions environnementales sont imposées. Les changements dynamiques de l'état physiologique des bactéries sont alors associés au système de synthèse protéinique, qui permet d'activer ou de désactiver la production d'enzymes spécifiques (Gardy et *al.*, 1996). Très peu d'approches ont été proposées, dans la littérature, pour modéliser ces phénomènes. Chung et *al.*, 2005, ont proposé un modèle simple à deux phases, qui découle du modèle de Haldane mais intégrant une phase de latence, dans le but de prédire le comportement d'une culture batch lorsqu'elle est soumise à une nouvelle quantité de substrat inhibiteur.

L'examen microscopique des boues a montré qu'avant l'addition du *p*-NP dans le bioréacteur, les microorganismes étaient agrégés sous forme de flocs denses (Figure III.6 (a) et (b)). La biomasse contient des protozoaires en grappe et des protozoaires ciliés en libre mouvement (Figure III.6 (b)). Les planches (c) et (d) de la Figure III.6 illustrent l'évolution des boues pendant un cycle d'acclimatation en batch à 75 mgDCO.l⁻¹ de *p*-NP. En 5 jours, les protozoaires ainsi que les bactéries filamenteuses ont disparu, et 10 jours plus tard les flocs se sont désagrégés et ont présenté des tailles plus réduites. Ceci pourrait être expliqué par un changement de la population microbienne prédominante pendant l'acclimatation au *p*-NP.

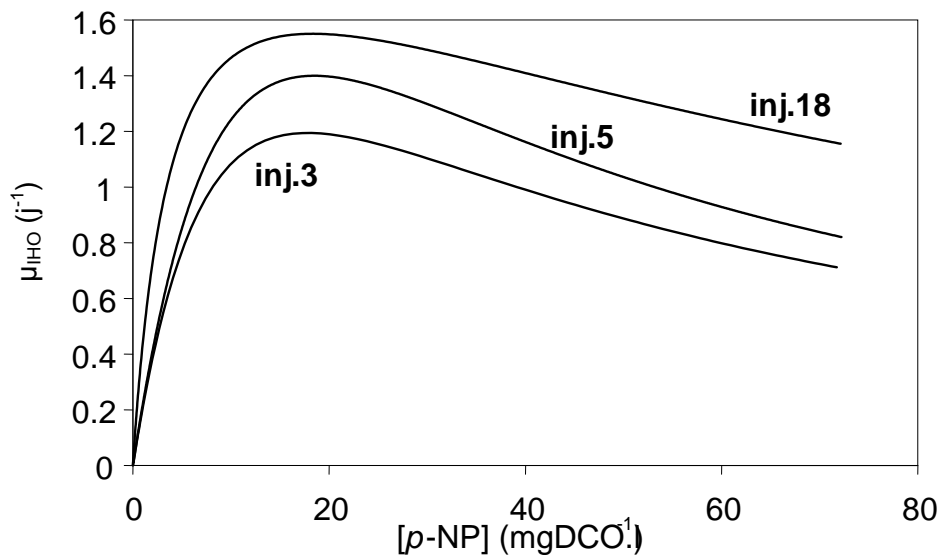
Ces changements physiologiques sont catalysés par la concentration du substrat (*p*-NP), dans l'environnement des bactéries, par conséquent ceux-ci ne dépendent pas uniquement des conditions d'alimentation (batch ou continu) (Tomei et *al.*, 2003), mais aussi de la structure des agrégats de biomasse (diffusion dans les flocs). Comme cela pourrait être

conclu de la Figure III.6, probablement, moins de structurants de floccs ont été formés, et moins d'exopolymères ont été formés induisant la défloculation. Par conséquent, la réduction de la taille des floccs rend le substrat de plus en plus disponible pour la population spécifique. Ceci pourrait être une explication en faveur de la baisse de la valeur de la constante d'affinité apparente ($K_{S,S_{inh,IHO}}$). Hamdi, 1995, a démontré qu'en dessous de la taille critique du biofloc, les cinétiques microbiennes ne sont plus affectées par le transfert diffusionnel dans le solide mais uniquement dans le film liquide. La constante d'affinité devient alors, encore plus représentative des microorganismes visés eux-mêmes (X_{IHO}).

L'effet de la taille du floc sur la résistance à l'inhibition (et par conséquent sur le niveau de la concentration inhibitrice) a été publié par Henriques et *al.*, (2005), qui ont montré que l' EC_{50} d'une biomasse dispersée est plus faible. Au contraire, dans notre travail, la réduction progressive de la taille des floccs n'est pas due à la baisse du $K_{I,IHO}$. Elle est vraisemblablement due à l'enrichissement progressif de la biomasse par les bactéries acclimatées. Il en serait, probablement, autrement si la dispersion de biomasse avait été obtenue par une défloculation rapide.



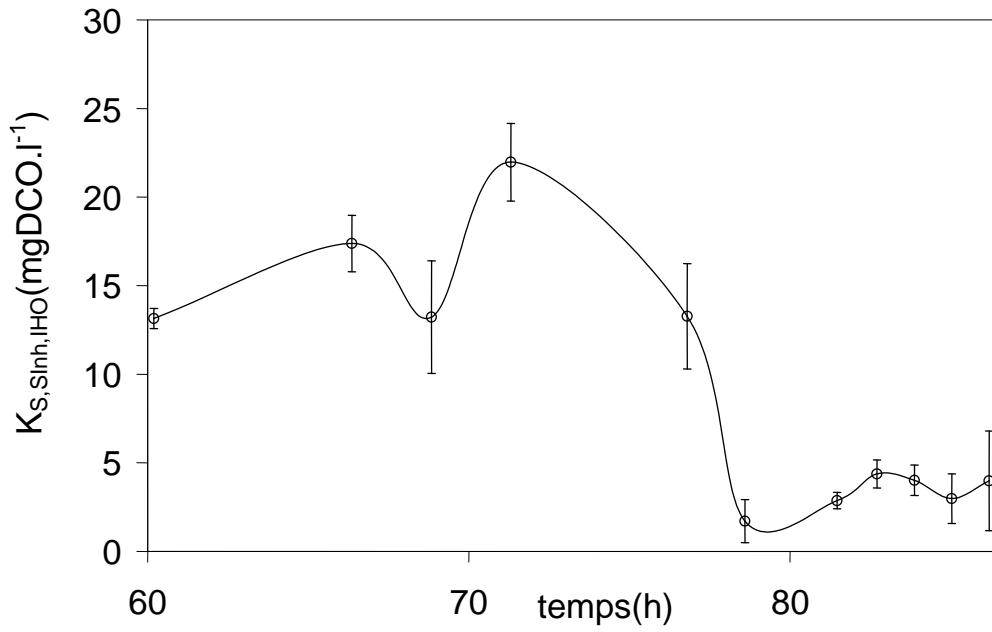
(a)



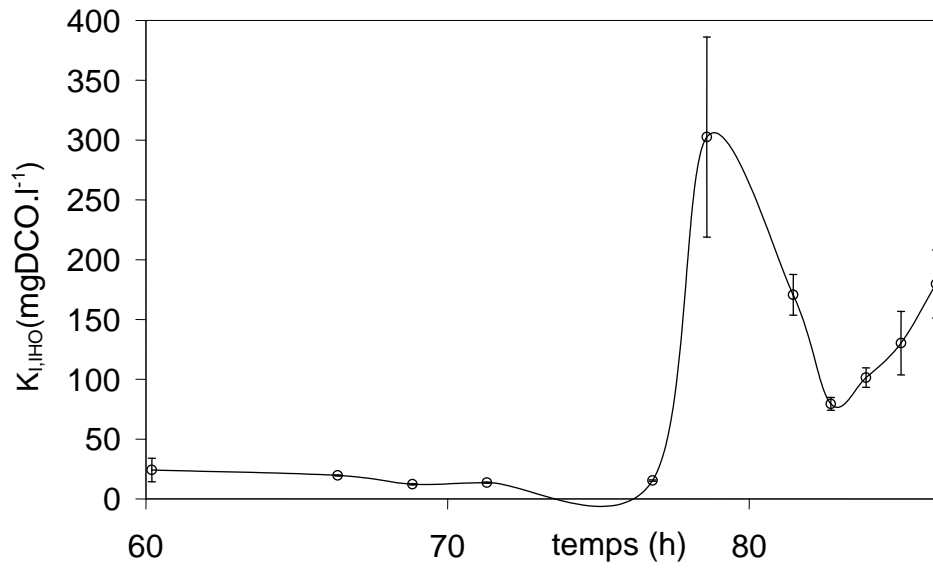
(b)

Inj.3: apport après 60.20 h; inj.5: après 66.36 h; inj.10: après 76.80 h; inj.18: après 87.36 h

Figure III.4 : Réponses expérimentale et simulées du r_{O_2} pendant la procédure d'acclimatation avec le *p*-NP comme unique source de carbone. (a) : r_{O_2} en fonction du temps ; (b) : taux spécifique de croissance simulé en fonction de la concentration du *p*-NP.



(a)



(b)

Figure III.5 : Evolution des paramètres du modèle pendant l'acclimatation : (a)

$K_{S,Sinh,IHO}$; (b) $K_{I,IHO}$

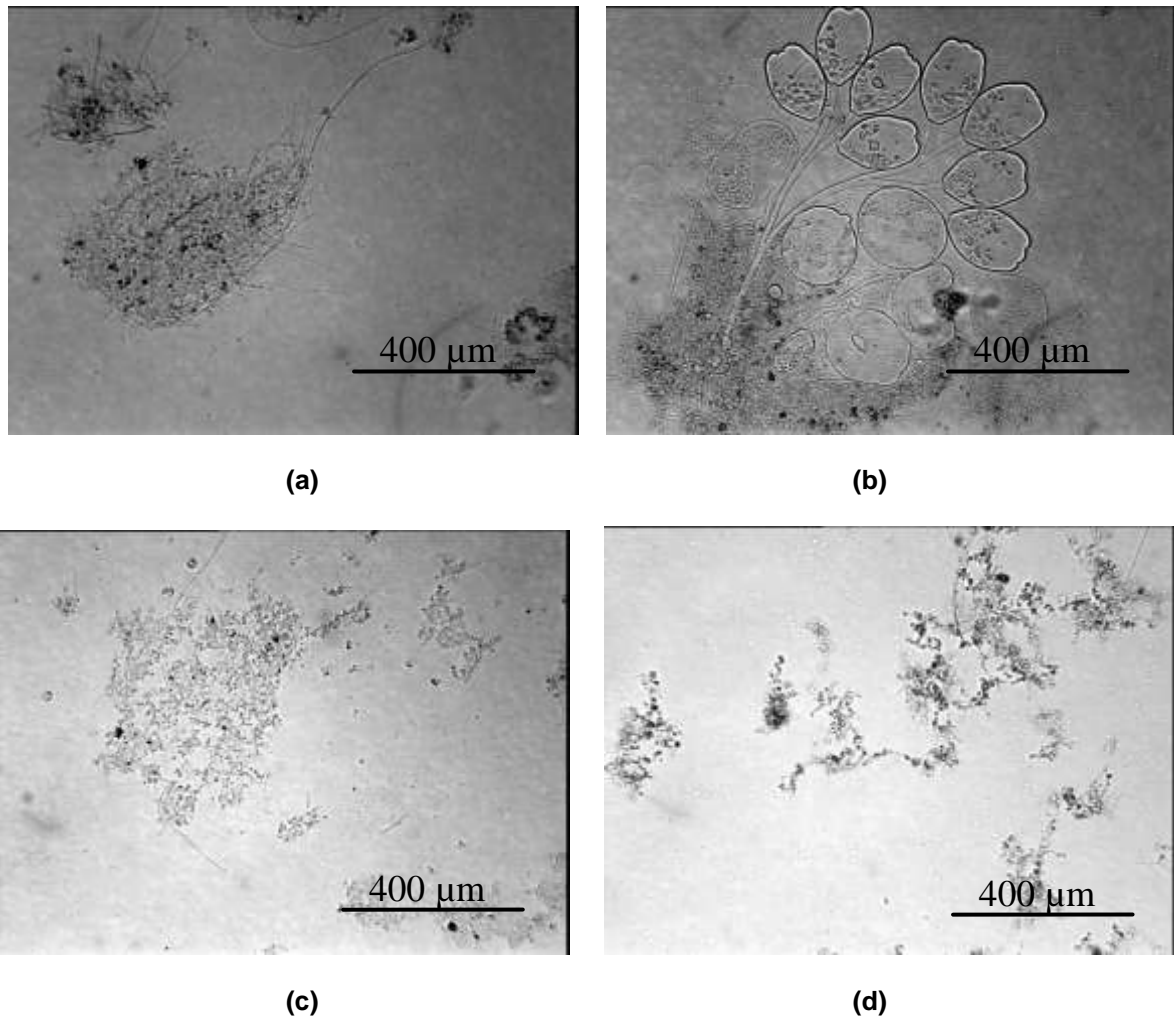


Figure III.6 : (a) Observation microscopique des microorganismes agrégés sous forme de denses floccs ; (b) avec des protozoaires. (c) Flocc déstructuré après 5 jours d'acclimatation à 75 mgDCO.l^{-1} de *p*-NP. (d) Floccs dispersés de taille réduite après 15 jours d'acclimatation à 75 mgDCO.l^{-1} de *p*-NP.

4.2. Changements dynamiques des paramètres cinétiques pendant les périodes de carence

La Figure III.7 (a) montre trois profils respirométriques obtenus pour des injections successives de la même quantité de *p*-NP ($55.2 \text{ mgDCO.l}^{-1}$), à la fin de la phase d'acclimatation (cycle1). Une période de carence d'environ 15 heures, sans apport en *p*-NP, sépare la fin de la première cinétique et le début de la deuxième cinétique. Par ailleurs, la troisième injection suit immédiatement la deuxième ; seules quelques minutes séparent ces deux dernières. Ces données illustrent donc un comportement typique de la biomasse lorsque la période de carence séparant deux batchs successifs est variable. Il faut noter, en observant la même figure, que le modèle de Haldane est incapable de décrire le début des

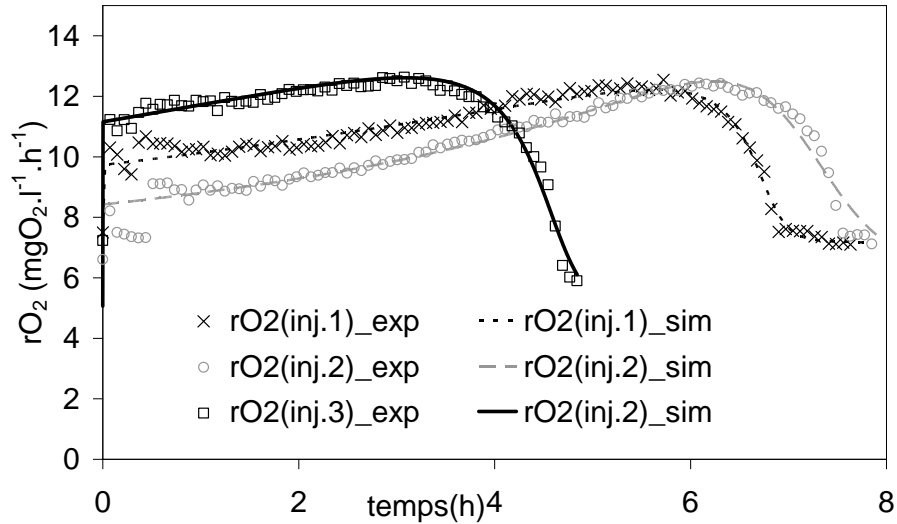
deux premières cinétiques, car séparées d'une période de carence plutôt longue, ce qui met en jeu des phénomènes assez complexes. La durée de dégradation passe de 6.7 à 7.9 h pour la première et la deuxième cinétique, d'un autre côté cette durée passe à 5.1 h pour la troisième. La valeur de $rO_{2,fin}$ (juste après la chute engendrée par l'injection du substrat) baisse clairement de la première à la deuxième expérience et augmente de la deuxième à la troisième. Ceci veut dire que, comme prévu, la période de carence dessert le maintien d'un taux de dégradation spécifique élevé. Plus la période de carence est faible, plus la réactivation est rapide et plus la vitesse de dégradation est grande.

La Figure III.7 (b) illustre les profils des taux spécifiques de croissance (μ_{IHO}) en fonction du substrat résiduel, donnés par simulation du modèle pour chacune des trois réponses après identification paramétrique. Elle montre que l'inhibition par le substrat est représentée pour les deux premières cinétiques, alors que la troisième affiche une cinétique de Monod.

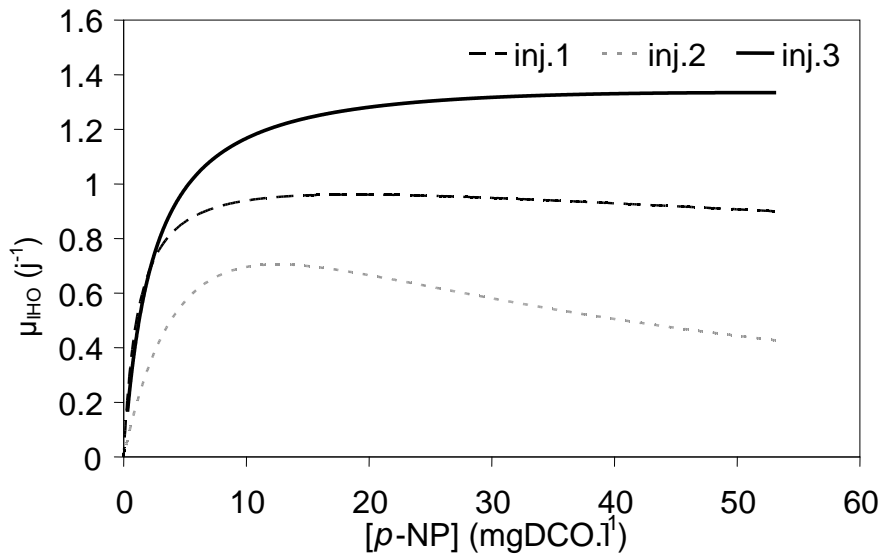
Pour ces mêmes données, le Tableau III.4 présente les valeurs des paramètres cinétiques obtenus par l'identification basée sur chaque profil rO_2 . Entre la première et la deuxième injection $K_{i,IHO}$ diminue et $K_{S,S_{inh},IHO}$ augmente. On en déduit que les boues se désacclimatent rapidement (en quelques heures) pendant une période de carence. Quelques heures après, les boues semblent se réacclimater rapidement entre la deuxième et la troisième injection puisque la valeur de $K_{i,IHO}$ augmente considérablement alors que la valeur de $K_{S,S_{inh},IHO}$ diminue. Pour ce dernier cas, il est important de noter que le $K_{i,IHO}$ n'est plus identifiable car la concentration du substrat injecté est trop faible pour observer significativement une inhibition par le substrat (le terme $(S_{inh}^2 / K_{i,IHO})$ est négligeable comparé à $(S_{inh} + K_{S,S_{inh},IHO})$ dans le dénominateur du modèle de Haldane et le taux de croissance tend vers le modèle de Monod).

Tableau III.4 : Effet de la carence sur les paramètres cinétiques

Injection	$\mu_{IHO,max} (j^{-1})$	$K_{S,S_{inh},IHO} (mgDCO.l^{-1})$	$K_{i,IHO} (mgDCO.l^{-1})$
1	1.09 ± 0.01	1.21 ± 0.02	289 ± 4.6
2	1.48 ± 0.01	6.86 ± 0.11	22.1 ± 0.3
3	1.46 ± 0.01	2.40 ± 0.05	1134 ± 39



(a)



(b)

Figure III.7 : Exemple de trios réponses successives de r_{O_2} (expérimentales et simulées) avec des périodes de carence variables. (a) r_{O_2} en fonction du temps, (b) taux de croissance spécifique simulé en fonction de la concentration en *p*-NP.

Les résultats démontrent clairement que le formalisme de Haldane est capable de décrire fidèlement chacune des cinétiques batchs d'une culture mixte dégradant le *p*-NP, seulement c'est loin d'être le cas en gardant le même jeu de paramètres cinétiques (excepté pour $Y_{Inh,IHO}$). Une étude des causes possibles de la variabilité des paramètres cinétiques estimés a été proposée par Gardy et *al.*, 1996. Le problème d'identifiabilité des paramètres, les changements du rapport $S_{Inh,0}/X_{IHO}(0)$, et la variabilité de l'historique de la culture étaient

les sujets essentiels de leur étude. Ici, comme l'identifiabilité a été correctement identifiée et le rapport $S_{Inh,0}/X_{IHO}(0)$ contrôlé, le changement des valeurs des paramètres cinétiques est essentiellement dû à l'historique de la biomasse. Lorsque la biomasse est fréquemment soumise à une forte concentration en *p*-NP, la valeur de $K_{I,IHO}$ augmente rapidement et celle de $K_{S,SInh,IHO}$ décroît, ce qui prouve que la biomasse est acclimatée. Au contraire, si la biomasse est maintenue sans *p*-NP pendant plusieurs heures, le comportement inverse est observé, et la biomasse a besoin de quelques heures d'adaptation pour retrouver les valeurs précédentes des paramètres cinétiques. L'impact de ce phénomène sur la valeur du coefficient d'inhibition « apparent », est visiblement le plus marquant ($K_{I,IHO}$ varie entre 20 plus de 1000 mgCOD.l⁻¹).

5. Conclusion

Dans ce chapitre, la biodégradation du *p*-NP par une culture mixte a été modélisée par un modèle cinétique à deux populations en se basant sur le formalisme de Haldane. Les paramètres cinétiques ont été estimés à partir d'expériences respirométriques en batch, à faible $S_{Inh,0}/X_{IHO}(0)$.

A la fin de la procédure d'acclimatation, les résultats suivants ont été observés :

- L'estimation du rendement de conversion ($Y_{Inh,IHO}$) et du taux de croissance spécifique maximal ($\mu_{IHO,max}$) de la biomasse spécifique dégradant le *p*-NP varie respectivement de 0.39 à 0.63 gDCO.gDCO⁻¹, et de 1.09 à 2.01 j⁻¹. Les valeurs les plus élevées sont obtenues pour les essais d'acclimations avec les concentrations en *p*-NP les faibles. Ceci serait dû au phénomène de découplage énergétique ou au phénomène de cométabolisme qui rend moins efficiente l'utilisation du *p*-NP comme unique source de carbone à la fin de l'acclimatation.
- Les valeurs de $K_{S,SInh,IHO}$ varient entre 1.21 et 11.4 mgDCO.l⁻¹, et ceux de $K_{I,IHO}$ entre 72.4 et 289 mgDCO.l⁻¹. Les expériences menées avec du *p*-NP comme unique source de carbone, ont montré que la valeur du $K_{S,SInh,IHO}$ a progressivement diminué, tandis que celle du $K_{I,IHO}$ a augmenté pendant l'acclimatation (puisque le taux spécifique de dégradation augmente). Le comportement inverse a été observé pendant les périodes de carence (de quelques heures), montrant que la résistance à de hauts niveaux de substrat pourrait désactiver et réactiver rapidement les boues.

L'augmentation du taux spécifique global de dégradation, pendant la période d'acclimatation, pourrait être traduite par une augmentation d'une biomasse adaptée (X_{IHO})

mais le modèle nécessite également d'inclure la dynamique de la constante d'inhibition par le substrat ($K_{i,IHO}$) et par la suite celle de la constante de demi-saturation ($K_{S,SInh,IHO}$).

Pour conclure, on peut considérer que les changements de la cinétique d'une culture mixte résultent de différents processus sur l'échelle des temps: les processus lents contribuent à la sélection des populations (croissance, multiplication cellulaire, décès), les processus biologiques d'agrégation (production d'exopolymères, densification des floccs ou défloculation), et les processus métaboliques rapides (activation et inactivation des pools enzymatiques selon la concentration et le flux du substrat).

Des changements lents du taux spécifique de dégradation du p-NP peuvent être modélisés, en partie, à l'aide d'un formalisme de croissance et de décès. Cependant, modéliser des changements rapides de la cinétique en fonction du mode d'alimentation (environnement local imposé et durée de l'imposition) nécessite de plus amples investigations.

Chapitre IV : Optimisation multiobjectif du dimensionnement d'un procédé à boues activées traitant un effluent contenant un xénobiotique

1. Introduction

La conception des STEP est généralement réalisée à l'aide de lois obtenues à partir de longues expériences empiriques. La stratégie de conception intègre simultanément une expertise humaine et un ensemble de différents objectifs parfois contradictoires. Par exemple, l'objectif principal et les contraintes d'une station d'épuration ont été jusqu'à présent : de réduire les émissions de pollution en terme de demande en oxygène (DCO, DBO₅) ou d'éléments nutritifs (N, P), de minimiser le coût d'investissement de la station en terme de volume, surface ou d'équipements; de minimiser la production de boues pour limiter les besoins de traitement des boues. Aujourd'hui, de nouvelles questions émergent : comment concevoir les procédés afin de contrôler la consommation d'énergie ? Comment concevoir des stations d'épuration afin de réduire la libération de certains micropolluants ?

La stratégie de conception des stations d'épuration est typiquement un problème d'optimisation multiobjectif, qui pourrait être résolu à condition que des modèles acceptables soient disponibles. D'importants travaux ont été développés pour la modélisation de procédés à boues activées, y compris l'élimination des matières organiques et des nutriments, conduisant à des modèles consensuels tel que le modèle ASM1 (Henze *et al.*, 1987) qui est inclus dans la plupart des projets d'analyse comparative (Spanjers, *et al.*, 1998;. Pons *et al.*, 1999;. Vanrolleghem, et Gillot, 2002; Nopens *et al.*, 2009). Il est maintenant nécessaire d'inclure les concepts de la dégradation des micro-polluants ou des xénobiotiques (Schonercklee, Peev, 2009) et d'évaluer les conséquences des nouvelles normes de rejet sur la conception des procédés à boues activées (2000/60/CE).

Après avoir étudié les cinétiques d'une culture mixte dégradant le *p*-NP dans un réacteur pilote alimenté en batch, dans le chapitre précédent, les valeurs des paramètres cinétiques identifiés ont été utilisées ci-après.

L'objectif de ce travail consiste à optimiser la conception et le fonctionnement d'un procédé à boues activées traitant une eau résiduaire contaminée par un composé xénobiotique : le *p*-NP, en termes de performances et en termes de coûts. Il s'agit de permettre la planification de la mise en place de la STEP avant de passer à l'exécution.

C'est donc un problème d'optimisation multiobjectif avec plusieurs critères (temps de séjour hydraulique, temps de séjour des boues, oxygène dissous, ratio de volume des réacteurs en série, répartition de l'alimentation...) soumis à des contraintes technologiques qui seront détaillées dans ce qui suit.

2. Description du procédé

Le procédé présenté sur la Figure IV.1 est constitué de deux réacteurs biologiques considérés parfaitement mélangés dans lesquels les eaux usées sont mises en contact avec une biomasse aérée en continu, afin de maintenir une concentration constante en oxygène. A l'entrée du procédé, les ERI arrivent avec un débit Q_e . Ce débit est réparti en deux fractions, la fraction $x \cdot Q_e$ alimente le réacteur 1, ayant un volume V_{R1} , et la fraction $(1-x) \cdot Q_e$ alimente le réacteur 2 ayant un volume V_{R2} . Ces eaux contiennent deux sources de carbone : une partie est considérée facilement biodégradable ($S_{B,e}$), et le *p*-NP qui est un substrat inhibiteur ($S_{Inh,e}$). Ce composé phénolé est généralement inhibiteur de l'activité d'un large spectre de microorganismes hétérotrophes.

On peut donc considérer que les boues présentes dans les 2 réacteurs, contiennent initialement, en proportion variable, une population (X_{IHO}) capable de se développer dans les eaux résiduaires industrielles chargées en *p*-NP. Cependant le reste de la population hétérotrophe (X_{OHO}) voit son activité inhibée par le *p*-NP. A la sortie du réacteur 2, la biomasse contenue dans la liqueur mixte est séparée du surnageant par décantation gravitaire puis elle est recyclée, en partie, dans le 1^{er} réacteur avec un débit Q_r . Un taux de recyclage de α a été appliqué, tel que le débit de recyclage $Q_r = \alpha \cdot Q_e$. La décantation étant supposée parfaite, aucune fuite de biomasse n'est considérée dans le surnageant traité sortant de la station. Les effluents traités ne contiennent donc que la fraction soluble (S_B et S_{Inh}). La boue excédentaire est extraite avec un débit de purge (Q_p), soutirée au fond du décanteur.

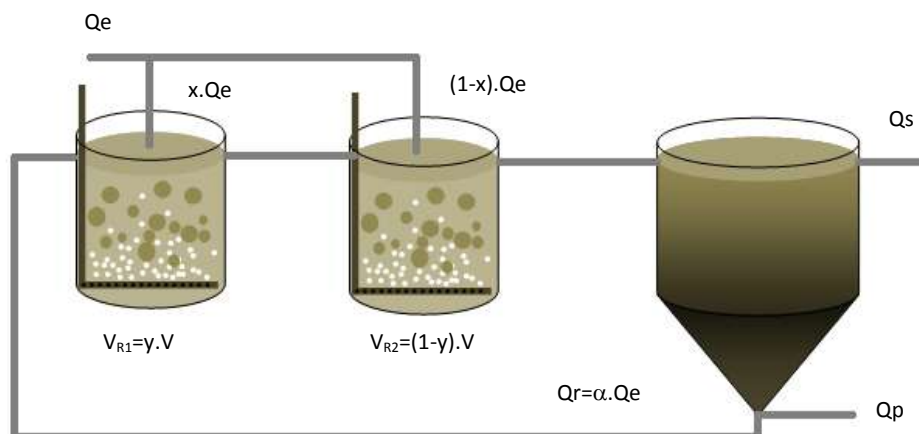


Figure IV.1 : Synoptique de l'installation pilote

3. Modélisation du procédé

Les dynamiques du processus seront modélisées à partir des équations bilans matières établies pour chaque élément macroscopique de la réaction biologique qu'il soit soluble ou particulaire. L'équation générale de l'évolution de chacun de ces éléments, sur un intervalle de temps déterminé, est régie par l'Équation IV.1, où la conversion est soit une vitesse de production, soit une vitesse de consommation.

$$\text{Accumulation} = \text{Entrées} - \text{Sorties} \pm \text{Conversion} \quad \text{Équation IV.1}$$

Le modèle mathématique sera établi en considérant les hypothèses suivantes :

H.1 : A l'entrée du procédé, l'eau résiduaire industrielle est exempte de biomasse. Cette hypothèse se justifie dans la mesure où il y a peu d'auto-ensemencement du procédé dans le cas des effluents industriels.

H.2 : Les réacteurs biologiques sont supposés parfaitement mélangés (une succession de réacteurs parfaitement mélangés pourra être utilisée suivant le régime d'écoulement).

H.3 : En première approximation, le décanteur est considéré parfaitement efficace :

H.3.1 : Le surnageant ne contient pas de biomasse à la sortie.

H.3.2 : Les concentrations en substances solubles ne sont pas modifiées dans le décanteur (substrats et oxygène).

Pour plus de précision, une succession verticale de réacteurs pourra être utilisée associée à un modèle de Takács et *al.*,(1991).

3.1. Formalisme

La modélisation de chacun des systèmes constituant le procédé pilote a permis d'obtenir, sous les hypothèses annoncées au début du paragraphe 3, un certain nombre de relations et de simplifications, détaillées dans les annexes. Celles-ci sont exploitées pour exprimer le modèle mathématique décrivant le procédé présenté par la Figure IV.1.

La cinétique d'inhibition par le substrat a été étudiée et modélisée au cours de travaux antérieurs (Rezouga et *al.*,2009) avec des boues activées au *p*-NP. Les boues sont ici supposées recevoir régulièrement cette molécule et l'on utilisera donc le jeu de paramètre identifié avec des boues acclimatées à un certain ratio ($R=S_B/S_{inh}$). Par conséquent, la biomasse est supposée contenir deux populations microbiennes. En s'inspirant des travaux

de Schönertlee et Peev (2009), le modèle mathématique basé sur le modèle ASM1 inclut une population hétérotrophe spécifique dégradant le p-NP (X_{IHO}), différente de la population hétérotrophe classique (X_{OHO}). Le modèle mathématique global est décrit par le Tableau IV.1.

Tableau IV.1 : Cinétique du modèle mathématique

j	v_j	i	1 S_U	2 S_B	3 S_{Inh}	4 $X_{U,Inf}$	5 XC_B	6 X_{OHO}	7 X_{IHO}	8 $X_{U,E}$	Vitesse de réaction
1	Croissance aérobie des hétérotrophes classiques sur le S_B			$-\frac{1}{Y_{OHO}}$				1			ρ_1
2	Croissance aérobie des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur sur le S_{Inh}				$-\frac{1}{Y_{Inh,IHO}}$				1		ρ_2
3	Croissance aérobie des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur sur le S_B			$-\frac{1}{Y_{SB,IHO}}$					1		ρ_3
4	Décès des hétérotrophes classiques						$1 - f_{X_U}$	-1		f_{X_U}	ρ_4
5	Décès des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur						$1 - f_{X_U}$		-1	f_{X_U}	ρ_5
6	Hydrolyse du carbone organique particulaire pour la croissance des hétérotrophes classiques			1			-1				ρ_6
7	Hydrolyse du carbone organique particulaire pour la croissance des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur			1			-1				ρ_7

ρ_1	$\mu_{OHO,max} \frac{S_B}{S_B + K_{S,SB,OHO}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,OHO}} \frac{K_{I,OHO}}{S_{Inh} + K_{I,OHO}} \frac{X_{OHO}}{S_{O_2}}$
ρ_2	$\mu_{IHO,max} \frac{S_{Inh}^2}{S_{Inh} + K_{S,SInh,IHO} + \frac{S_{Inh}^2}{K_{I,IHO}}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} \frac{X_{IHO}}{S_{O_2}}$
ρ_3	$\mu_{IHO,max} \frac{S_B}{S_B + K_{S,SB,IHO}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} \frac{K_{I,IHO}}{S_{Inh} + K_{I,IHO}} \frac{X_{IHO}}{S_{O_2}}$
ρ_4	$b_{OHO} X_{OHO}$
ρ_5	$b_{IHO} X_{IHO}$
ρ_6	$q_{hyd,OHO} \frac{XC_B/X_{OHO}}{XC_B/X_{OHO} + K_{S,hyd}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,OHO}} \frac{X_{OHO}}{S_{O_2}}$
ρ_7	$q_{hyd,IHO} \frac{XC_B/X_{IHO}}{XC_B/X_{IHO} + K_{S,hyd}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} \frac{X_{IHO}}{S_{O_2}}$

Dans ce procédé, la concentration en oxygène est maintenue constante dans chacun des réacteurs, pour cette raison S_{O_2} n'est pas considérée comme étant une variable d'état. La vitesse de consommation d'oxygène qui résulte de ce modèle est exprimée comme suit :

$$r_{O_2} = \left(\frac{1 - Y_{OHO}}{Y_{OHO}}\right) \cdot \rho_1 + \left(\frac{1 - Y_{Inh,IHO}}{Y_{Inh,IHO}}\right) \cdot \rho_2 + \left(\frac{1 - Y_{SB,IHO}}{Y_{SB,IHO}}\right) \cdot \rho_3 + (1 - f_{X_U}) \cdot \rho_4 + (1 - f_{X_U}) \cdot \rho_5 \quad \text{Équation IV.2}$$

4. Dimensionnement du décanteur secondaire

Le décanteur sert à assurer la séparation et un premier épaissement des boues entraînées par l'effluent traité issu du bassin d'aération. Il permet aussi le stockage des boues pendant une période transitoire.

On choisit d'utiliser des décanteurs à succion des boues cylindro-coniques (Figure IV.2), à cause des phénomènes cités dans les annexes.

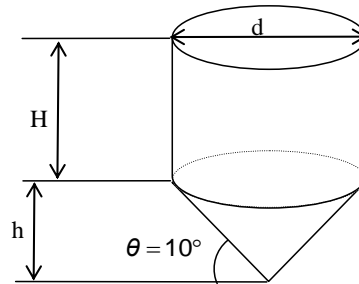


Figure IV.2 : Schéma d'un décanteur cylindro-conique

D'après le détail du calcul visant le dimensionnement du décanteur décrit dans les annexes, on obtient l'expression du volume de décantation suivant :

$$V_{dec} = \frac{Q_e}{24.V_a} \cdot \left(H + \left(\frac{1}{3 \cdot \sqrt{\pi}} \cdot \sqrt{\frac{Q_e}{24.V_a}} \cdot \text{tg}(\theta) \right) \right) \quad \text{Équation IV.3}$$

Étant donné l'importante surface des clarificateurs on choisit un angle, $\theta = 10^\circ$. La hauteur de la partie cylindrique du décanteur a été fixée à $H = 3.5$ m qui est la valeur minimale préconisée par Metcalf & Eddy en 2003 pour les méthodes classique de dimensionnement des STEP.

5. Position du problème d'optimisation

Nous avons choisi de positionner le problème de la manière suivante : Optimiser le dimensionnement d'un procédé à boues activées traitant des eaux résiduaires industrielles contenant des molécules inhibitrices tel que le p-NP revient à minimiser le coût

d'investissement du procédé et à maximiser ses performances. Il s'agit donc de trouver un compromis entre ces deux objectifs sous certaines contraintes.

Les paramètres d'action principaux sont le temps de séjour hydraulique (TRH) qui est égal à l'inverse du taux de dilution (D_e), et le temps de séjour des micro-organismes (TRS) qui est inversement proportionnel au taux de purge de la biomasse (D_p). Par conséquent, le temps de rétention hydraulique et le temps de rétention des solides sont exprimés comme suit :

$$TRH = \frac{V_R}{Q_e} \quad \text{Équation IV.4}$$

$$TRS = \frac{V_R}{Q_p} \quad \text{Équation IV.5}$$

Il s'agit, d'un côté, de minimiser une fonction coût d'investissement appelé indice de coût d'investissement (ICI) qui se résumera, dans ce cas, au coût relatif au volume des ouvrages, qui sont les réacteurs biologiques et le décanteur secondaire :

$$ICI = V_{R1} + V_{R2} + V_{dec} = V_R + V_{dec} \quad \text{Équation IV.6}$$

Maximiser les performances revient à réduire l'impact des ERI traitées sur le milieu récepteur. En s'inspirant des travaux de simulation du modèle du 2^{ème} Benchmark (BSM2), notamment, ceux de Jeppson et *al.*, 2007 et Copp et *al.*, 2008, la fonction qui modélisera cet impact est appelé indice de pollution (IP).

$$IP = \frac{1}{T} \cdot \int_{t_1}^{t_2} \left((\beta_{DCO} \cdot DCO) + (\beta_{DBO5} \cdot DBO_5) + (\beta_{S_{Inh}} \cdot S_{Inh}) \right) dt \quad \text{Équation IV.7}$$

Il s'agit de choisir les coefficients de pondération qui ont pour objectif de donner un poids similaire aux différents critères de qualité d'eau.

β_{DCO} et β_{DBO5} sont choisis en gardant le même rapport introduit par Vanrolleghem et *al.*, 1996, à savoir $\frac{\beta_{DBO5}}{\beta_{DCO}} = 2$. Dans cette étude, $\begin{cases} \beta_{DBO5} = 2 \\ \beta_{DCO} = 1 \end{cases}$. l'estimation de $\beta_{S_{Inh}}$, a été effectuée sur la base du rapport entre la DCO soluble à la sortie du procédé et la concentration en S_{Inh} dans les ERI traitées, et ce, pour un point central choisi à partir du nuage de point initial et qui est caractérisé par (TRH=0.83 j, TRS=0.09 j). La valeur calculée est alors $\beta_{S_{Inh}} = 10.5$. Par conséquent, les valeurs des indices de coût d'investissement ICI relatifs à chaque couple d'entrées sont déterminées.

$T = t_2 - t_1$ est une durée de $7j$, correspondant à la période de simulation. Cette période pourra inclure (ou pas) une perturbation du régime permanent du procédé, par une surcharge toxique de p -NP, et le retour vers un régime permanent stable du procédé. Cette perturbation est caractérisée par une concentration résiduelle totale en inhibiteur calculée à partir de l'expression suivante :

$$S_{Inh,overload} = \frac{1}{T} \cdot \int_{t_1}^{t_2} (S_{Inh}) dt \quad \text{Équation IV.8}$$

La DCO, ainsi que la DBO_5 , (qui sont des variables dite « composites ») sont calculées à partir des valeurs des variables d'état, selon les expressions et les rapports rassemblés dans les travaux de Takács, 2008

$$DCO = S_U + S_B + S_{Inh,overload} \quad \text{Équation IV.9}$$

$$DCO = S_U + S_B + S_{Inh,overload} \quad \text{Équation IV.10}$$

$$DBO5 = \frac{DCO_{biodegradable}}{0,66} \quad \text{Équation IV.11}$$

Afin d'introduire les calculs des MES et des MVS, il faut commencer par définir la concentration des éléments particuliers notée X .

$$X = X_{OHO} + X_{IHO} + X_{U,E} + X_{C_B} \quad \text{Équation IV.12}$$

$$MVS = \frac{X}{1.42} \quad \text{Équation IV.13}$$

$$MES = \frac{MVS}{0.8} \quad \text{Équation IV.14}$$

Schématiquement, le problème d'optimisation multiobjectif proposé est illustré par le synoptique suivant :

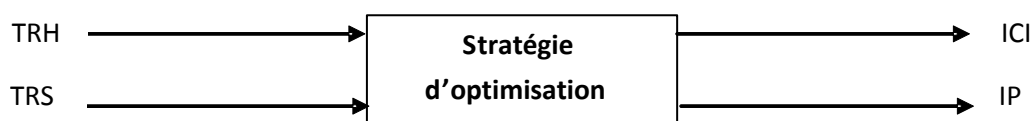


Figure IV.3 : Schéma de la stratégie d'optimisation multiobjectif

Des contraintes technologiques sont imposées au fonctionnement du procédé. Nous choisissons de dimensionner une unité pour un débit d'alimentation de $Q_e=5000\text{m}^3.\text{j}^{-1}$ (contrainte (1) du Problème 1). Les temps de séjour choisis (TRH et TSH) balayent des intervalles de variation assez larges afin de pouvoir envisager les différents cas de procédés à faible, moyenne et forte charge (contraintes (2) et (3) du Problème 1). Le débit de purge appliqué devra permettre d'éviter le phénomène de lessivage et de favoriser la multiplication cellulaire (contrainte (4) du Problème 1). Finalement, la contrainte (5) du Problème 1 assure l'état final du système qui est considéré stable à t_f . Le problème d'optimisation s'écrit alors comme suit :

$$\min_{TR=\begin{pmatrix} TRH \\ TRS \end{pmatrix}} \left(J(TR) = \begin{pmatrix} ICI(t_f) \\ IP(t_f) \end{pmatrix} \right)$$

Problème 1

$$\text{sous : } \begin{cases} Q_e = 5000 \text{ m}^3.\text{j}^{-1} & (1) \\ 0,4 < TRH < 2 & (2) \\ 2 < TRS < 20 & (3) \\ D_p < (\mu_{IHO,max} - b_{IHO}) & (4) \\ t = t_f, \text{ lorsque } \frac{d(X)}{dt} = 0 & (5) \end{cases}$$

5.1. Méthodologie

Certains critères de dimensionnement supplémentaires ont été intégrés non pas comme des valeurs d'entrée à optimiser (comme TRH et TRS), mais comme des valeurs imposées à chaque optimisation, ce qui permet de comparer différents scénarios de dimensionnement. Il s'agit de l'emplacement de l'alimentation (x), de la fraction de volume de chaque réacteur (y) et de la teneur en oxygène. De plus la possibilité d'optimiser le procédé pour faire face à des perturbations a été envisagé : tous les scénarios ont été réalisés en double : soit en régime permanent, soit avec un scénario de surcharge (une surcharge continue de $5.S_{inh,e}$, pendant une journée a été imaginée).

Le procédé schématisé par la Figure IV.1, a été simulé tout d'abord pour 10 scénarios différents. Les paramètres qui ont été modifiés d'un scénario à l'autre, ainsi que les valeurs prises pour chacun des scénarios sont résumés dans le Tableau IV.2.

Tableau IV.2 : Différents scénarios de conduite du procédé

Scénario n°	x	Y	S _{O2}	Perturbation
1	0	0	2	0
2	0	0	2	5. S _{inh,e}
3	0	0.5	2	0
4	0	0.5	2	5. S _{inh,e}
5	0	0	1	0
6	0	0	1	5. S _{inh,e}
7	1	0.5	2	0
8	1	0.5	2	5. S _{inh,e}
9	0.5	0.5	2	0
10	0.5	0.5	2	5. S _{inh,e}

La stratégie d'optimisation décrite ci-dessus a été appliquée pour chacun des 10 cas. Outre l'évaluation des deux critères : l'indice de Pollution et de l'indice de Coût, un autre paramètre important a été suivi tout au long des différents scénarios d'optimisation. Appelé Indice de Coût de Fonctionnement (ICF), ce paramètre représente la puissance consommée par des aérateurs à fines bulles dans des réacteurs sous forme de bassins cylindriques. Il a été calculé d'après ce qui suit :

$$ICF = \frac{TRH}{1000} \frac{K_L a}{\alpha_{kLa} \beta_{kLa}} \frac{SO_2^*}{\overline{ASB}} \quad \text{Équation IV.15}$$

avec $\alpha_{kLa} = e^{-\omega \cdot MES}$ (document technique de la fndae n°16) Équation IV.16

La valeur de $\omega = 7.13 \cdot 10^{-2}$ est calculée pour des $MES = 5 \text{ g.l}^{-1}$ avec une valeur moyenne de $\alpha_{kLa} = 0.7$ tirée du document technique de la fndae n°26.

$$\beta = 0.9 \text{ (Metcalf \& Eddy en 2003).}$$

La valeur moyenne $\overline{ASB} = 3.11$ est préconisée par le document technique de la fndae n°26

6. Approximation du domaine de Pareto

6.1. Mise en place de l'espace de décision

Initialement $M=3000$ points sont générés définissant ainsi l'espace de recherche. Chaque point est désigné par deux coordonnées correspondant aux valeurs des paramètres d'action le définissant et caractérisant le fonctionnement du procédé : $TR=(TRH,TRS)^T$. Pour chacun des temps de séjour, une valeur est choisie aléatoirement à partir de sa gamme de variation (contraintes (2) et (3) du Problème 1). Une fois un point est choisi, les deux taux de dilution (D_e et D_p) correspondant sont calculés. Par conséquent, D_{e1} et D_{e2} sont déduits. Le volume du réacteur (V_R) est ensuite déterminé à partir de l'Équation IV.4 ce qui permettra de calculer la valeur de Q_p en se basant sur l'Équation IV.5. Après que le volume réactionnel total soit déterminé, ce dernier est réparti en V_{R1} et V_{R2} , en fonction du scénario simulé (valeur imposée à y). Après application des contraintes (1), (2), (3) et (4) du Problème 1, le domaine de recherche est représenté dans la Figure IV.4.

Dans un premier temps, le Système IV.4 et le Système IV.5 sont intégrés pour cet ensemble afin de générer les valeurs des volumes du décanteur, des volumes du réacteur, des demandes d'oxygène, et des performances.. Ensuite, il s'agit d'estimer les coefficients de pondération β_{DCO} et β_{DBO5} qui sont choisis en gardant le même rapport introduit par Vanrolleghem et *al.*, 1996, à savoir $\frac{\beta_{DBO5}}{\beta_{DCO}} = 2$. Dans cette étude, $\begin{cases} \beta_{DBO5} = 2 \\ \beta_{DCO} = 1 \end{cases}$. l'estimation de $\beta_{S_{Inh}}$, a été effectuée sur la base du rapport entre la DCO soluble à la sortie du procédé et la concentration en S_{Inh} dans les ERI traitées, et ce, pour un point central choisi à partir du nuage de point initial et qui est caractérisé par ($TRH=0.83$ j, $TRS=0.09$ j). La valeur calculée est alors $\beta_{S_{Inh}} = 10.5$. Par conséquent, les valeurs des indices de coût d'investissement ICI relatifs à chaque couple d'entrées sont déterminées.

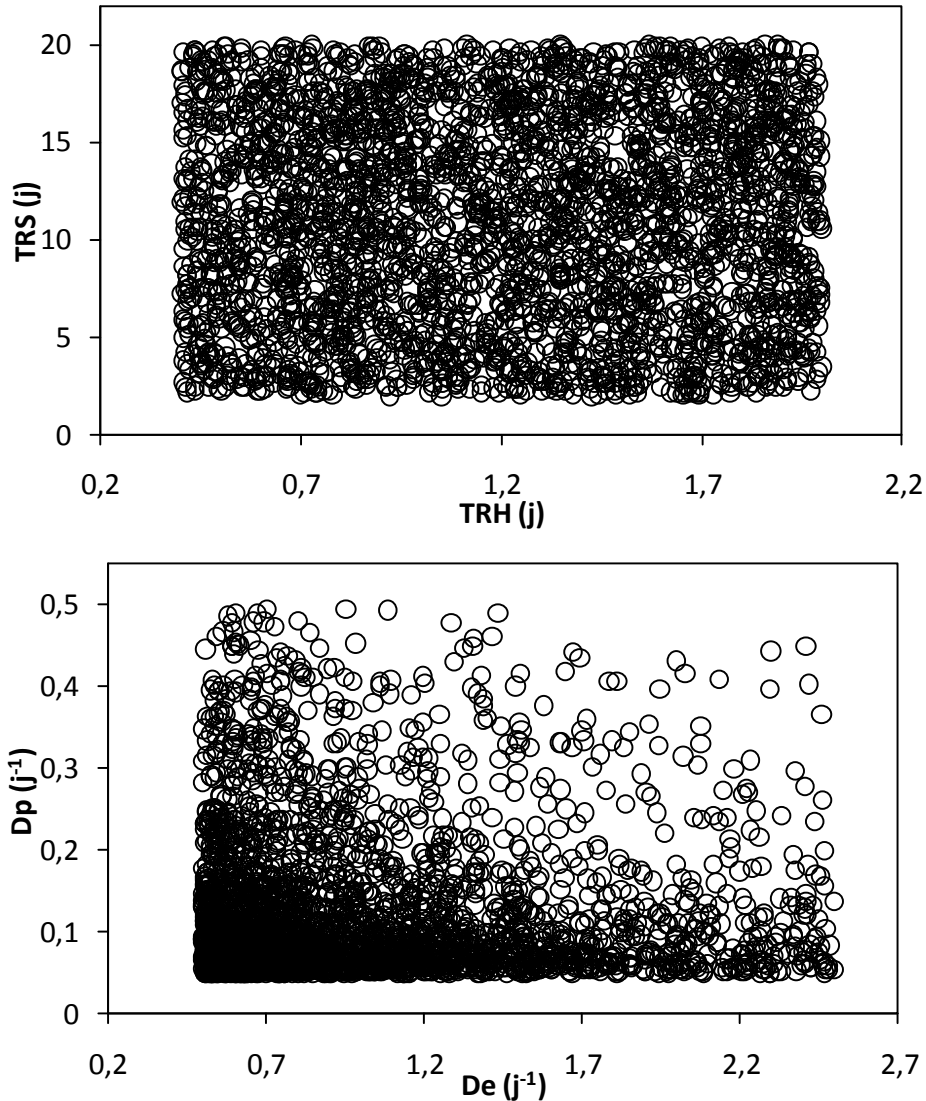


Figure IV.4 : L'espace de recherche

6.2. Dimensionnement optimal d'un procédé à boues activées classique (scenario 1)

Après convergence de l'algorithme le front de Pareto représenté dans la Figure IV.5 est obtenu. Les points de fonctionnement obtenus alors, balayent tout l'intervalle des TRS mais les TRH sont restreints à des valeurs inférieures à 1,3 j. On peut distinguer dans ce faisceau de valeur, le domaine de design à forte charge (faible TRH et faible TRS) et le domaine des procédés dimensionnés à faible charge (fort TRS et fort TRH).

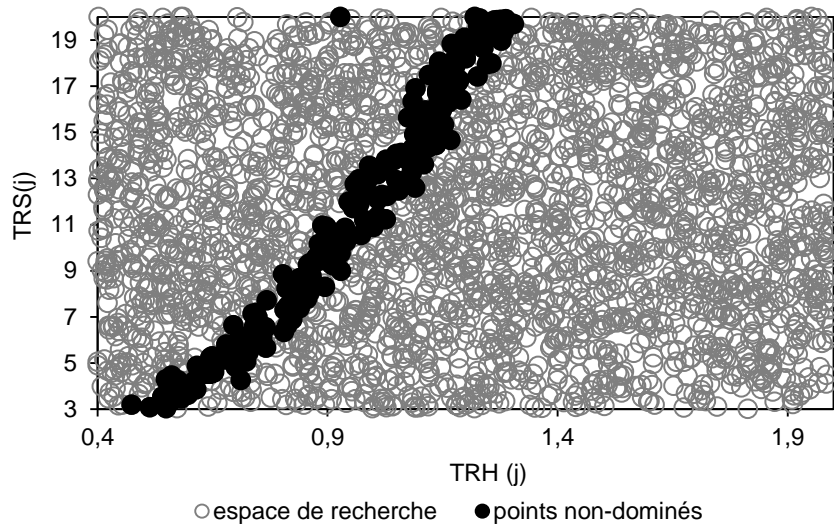


Figure IV.5 : Espace de recherche et front de Pareto

La Figure IV.6 illustre d'une part les MES, le volume du décanteur et le volume du réacteur en fonction de l'Indice de Pollution et d'autre part l'espace des critères, à savoir l'indice de cout d'investissement (ICI) en fonction de l'Indice de Pollution (IP).

La comparaison entre les points initiaux et les points optimaux finaux montre une bonne convergence (Figure IV.5 et la Figure IV.6). Ces résultats indiquent qu'un dimensionnement optimal d'une telle STEP, à un seul réacteur, engendre une stabilisation des MES entre 2000 et 4700 g.m^{-3} . Ces MES nécessitent des volumes de décanteur allant de 2000 à 7000 m^3 . Les valeurs des volumes de réacteur obtenus, sont dans le même ordre de grandeur que celui des volumes du décanteur (entre 2400 et 6500 m^3). On en déduit une répartition quasi-égale des volumes de l'ICI, qui est, rappelons-le, la somme du volume de réacteur et du volume du décanteur.

On peut aussi remarquer que le dimensionnement optimal pour les procédés à forte charge (faible TRS) correspond au teneur en MES les plus faibles, alors que pour les dimensionnement à faible charge (fort TRS) on converge vers des MES plus fortes. Cela confirme parfaitement une tendance réelle et empirique qui est appliquée chez les concepteurs. Ceci est généralement expliqué dans les manuels de dimensionnement par les qualités de décantation différentes des boues de ces deux gammes de procédé, mais on voit ici que les lois de calcul et l'optimisation permettent de démontrer que ce choix permet la meilleure répartition des volumes de réacteur et décanteur pour obtenir un volume total minimal (ICI).

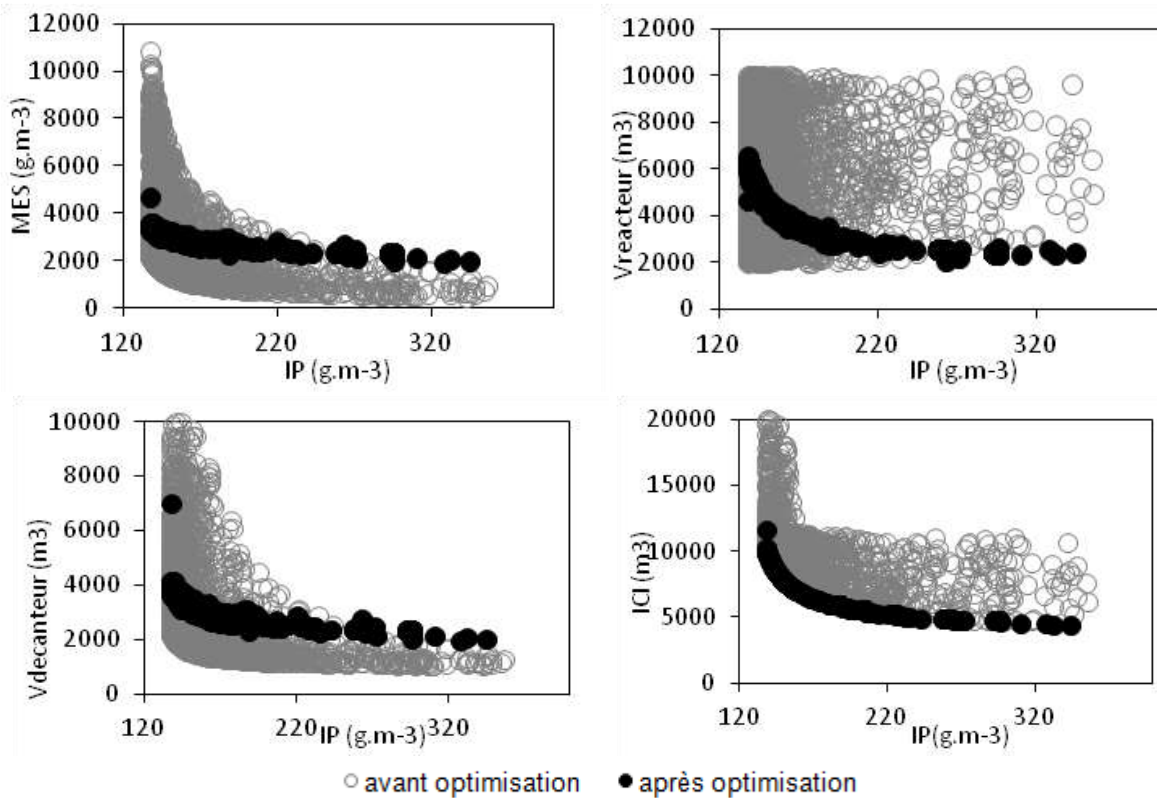


Figure IV.6 : L'espace des critères avant et après optimisation

Le critère représenté par l'ICI présente des valeurs comprises entre 4400 et 13500 m³, tandis que l'IP est entre 138 et 472 g.m⁻³ comme le montre le front de Pareto. La Figure IV.6 montre que les plus faibles valeurs de TRH et de TRS, correspondant au dimensionnement à forte charge, conduisent aux performances les plus faibles (plus forts indices de pollution IP) et aux plus faibles coûts d'investissement (ICI).

6.3. Optimisation d'un procédé à boues activées dans des conditions de surcharge toxique

Dans le but d'étudier et de maximiser la résistance, d'un dimensionnement optimal, à une surcharge toxique en p -NP, lors d'une limitation en oxygène à l'intérieur du réacteur, les scénarios 2, 5 et 6 ont été comparés au scénario de référence n°1, dont les résultats sont décrits ci-dessus. Une surcharge continue de $5.S_{inh,e}$, pendant une journée a été imaginée, ce qui correspond à environ 2,5 fois la concentration conduisant à 50 % d'inhibition de l'activité bactérienne (K_i).

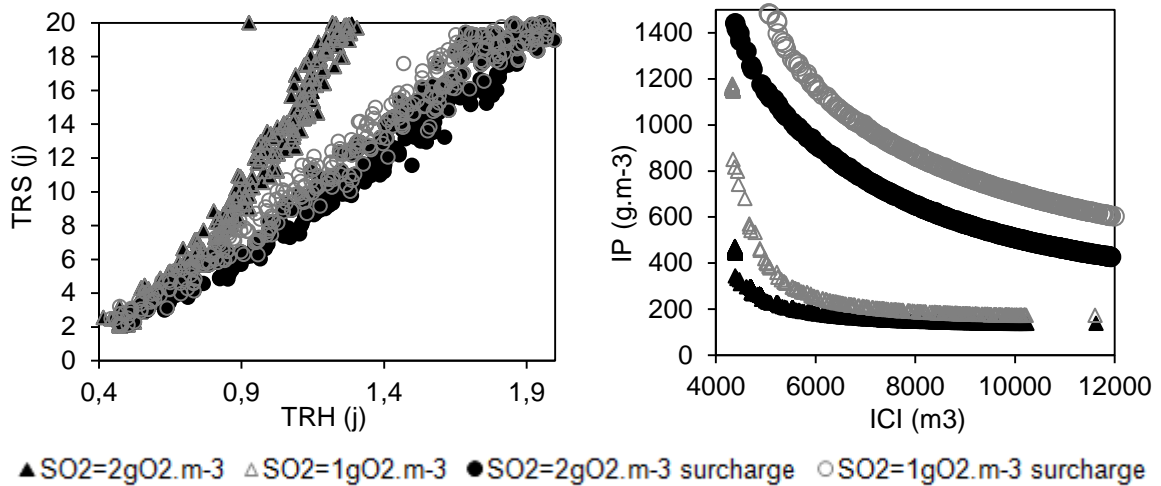


Figure IV.7 : Comparaison des scénarios avec et sans surcharge toxique, avec et sans limitation en oxygène (scénarios 1, 2, 5 et 6)

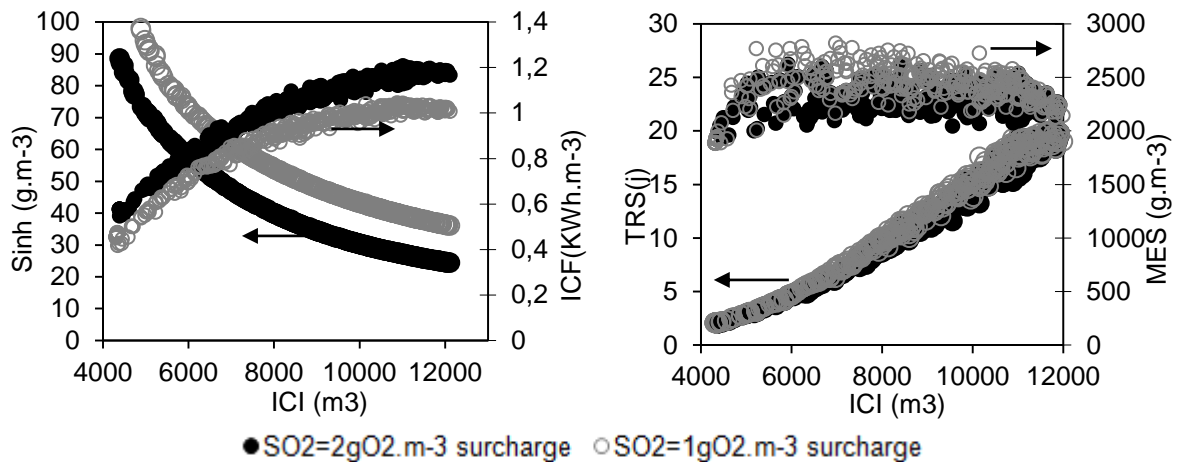


Figure IV.8 : Effet de la limitation en oxygène sur les dimensionnements optimaux avec une surcharge toxique (scénarios 2 et 6)

La Figure IV.7 illustre les résultats d'optimisation de ces différents scénarios et notamment les espaces de recherche correspondant, après génération des points non dominés. Il en ressort que, lors de l'application d'une telle surcharge, pour les mêmes valeurs de TRS, particulièrement pour les plus élevées d'entre elles, le TRH optimal est plus élevé (ceci veut dire que le volume de bassin choisi sera plus important).

Dans ce cas, les MES se regroupent aux alentours de valeurs comprises entre 1900 et 2900 g.m⁻³ (Figure IV.8) et les volumes de décanteur entre 1900 et 2900 m³, contrairement aux volumes de réacteur qui varient dans une gamme beaucoup plus large, à savoir, entre 2200 et 10000 m³. Il est intéressant de constater que, d'une part, l'IP se déplace vers des valeurs plus élevées pour un volume donné du procédé (ICI). D'autre part, les ICI sont, sensiblement, dans la même gamme de variation mais une capacité de dilution plus élevée est nécessaire pour minimiser l'impact de la surcharge toxique. Lorsqu'on étudie respectivement les scénarios 1 et 5, et les scénarios 2 et 6, les comportements observés sont sensiblement les mêmes. Il apparaît clairement, dans la Figure IV.8 que les ICI élevés ainsi que les TRS élevés (15 à 20 jours) deviennent préférables dans le cas de système soumis à une surcharge toxique, en raison d'une meilleure résistance (concentration maximale de sortie moins élevée) et d'une meilleure résilience (les bonnes performances sont récupérées plus rapidement). De plus, étant donnée une plus grande capacité de dilution de la pollution, l'ICF est légèrement moins élevé lorsque le fonctionnement de la STEP est perturbé par une surcharge toxique, pour les meilleures performances (IP faibles) alors qu'elle augmente pour les IP les plus élevés.

6.4. Effet de la concentration en oxygène sur le dimensionnement optimal : stratégie d'aération

Un scénario spécifique vise à étudier l'effet de la concentration en oxygène sur le dimensionnement optimal ainsi que sur l'ICF (Figure IV.7 et Figure IV.8). En limitant la concentration en oxygène dissous à 1g.m⁻³, au lieu de 2g.m⁻³ (scénario nominal), l'algorithme génère les mêmes coordonnées non-dominées [HRT, SRT] en revanche, l'efficacité chute considérablement, surtout lors de l'application d'une surcharge toxique (Figure IV.7 et Figure IV.8). Par exemple, pour garantir les mêmes performances, durant une surcharge toxique, le coût d'investissement (volume total) doit être de 30 à 40 % plus élevé lors de la réduction de la SO₂ de 2 à 1g.m⁻³. Une perte de robustesse est clairement quantifiée dans cette condition de limitation en oxygène. En parallèle, le coût d'exploitation (ICF) diminue de 20 % en limitant la concentration en O₂ à 1g.m⁻³ (Figure IV.8) sans grand impact sur l'Indice de Pollution à l'état stationnaire. L'impact négatif d'une réduction de l'oxygène dissous est un peu plus prononcé, sur l'élimination du xénobiotique (Sinh) par rapport à l'impact sur l'Indice global de Pollution (en raison du fait que la DCO totale rejetée inclue également la fraction inerte). On peut donc conclure qu'une stratégie optimale pourrait être de réduire la valeur du SO₂ en régime stationnaire, et d'augmenter cette consigne durant la période de surcharge toxique.

La Figure IV.8 illustre, entre autres, les coûts d'aération contre les coûts d'investissement. D'un point de vue purement économique, on constate que le fait de fixer le SO_2 à 1 g.m^{-3} permet d'économiser en moyenne 0.2 kWh.m^{-3} d'énergie d'aération à fournir. Néanmoins, cette économie est assez impactante puisque, comme cela a été dit précédemment, elle entraîne une augmentation considérable de l'IP. Ces conclusions sont valables aussi bien pour le mode de fonctionnement en régime permanent, que lors d'une surcharge toxique.

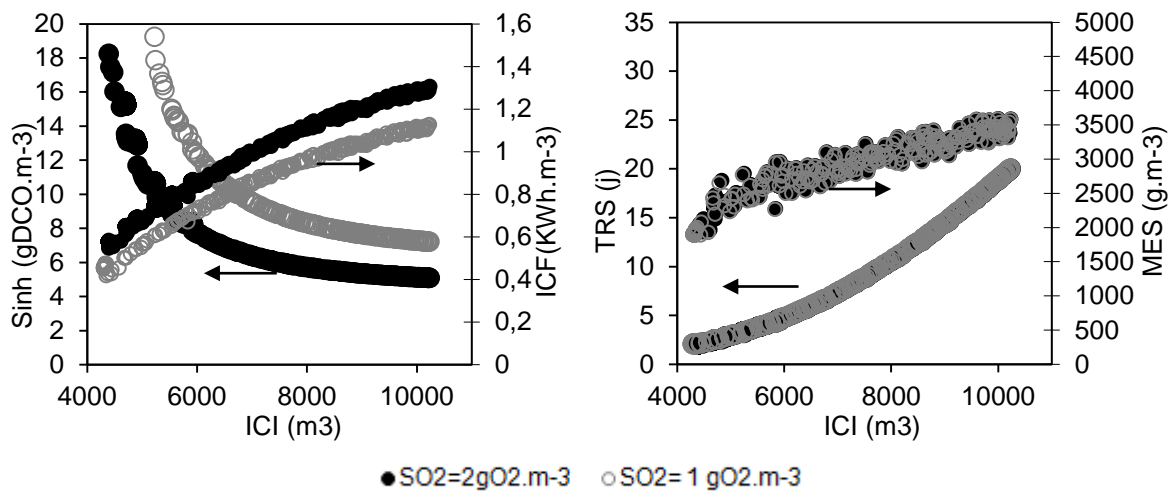


Figure IV.9 : impact de la stratégie d'aération, lors d'un fonctionnement en régime permanent, sur un dimensionnement optimal : concentration en substance toxique (Sinh), Indice de Coût d'Investissement (ICI) et Indice de Coût de Fonctionnement (ICF)

6.5. Comparaison entre un procédé à boues activé classique et un procédé à alimentation étagée

Dans ce dernier paragraphe, un procédé à boues activées, avec deux réacteurs en série, est comparé à un procédé à réacteur unique. Les résultats optimaux indiquent qu'un procédé à deux réacteurs de volume égal ($y=0.5$) donne de meilleures performances, pour le même coût d'investissement en régime permanent (Figure IV.10), alors que les performances sont similaires dans les deux cas, pour des scénarios avec perturbation (Figure IV.10). Cela s'explique notamment par le fait qu'à l'état stationnaire, la vitesse de dégradation est une cinétique de premier ordre (2 réacteurs successifs sont alors plus efficaces), mais ce n'est pas nécessairement vrai lors d'un phénomène d'inhibition (la concentration dans le réacteur augmente et l'on atteint la vitesse maximale et une cinétique d'ordre zéro par rapport au substrat).

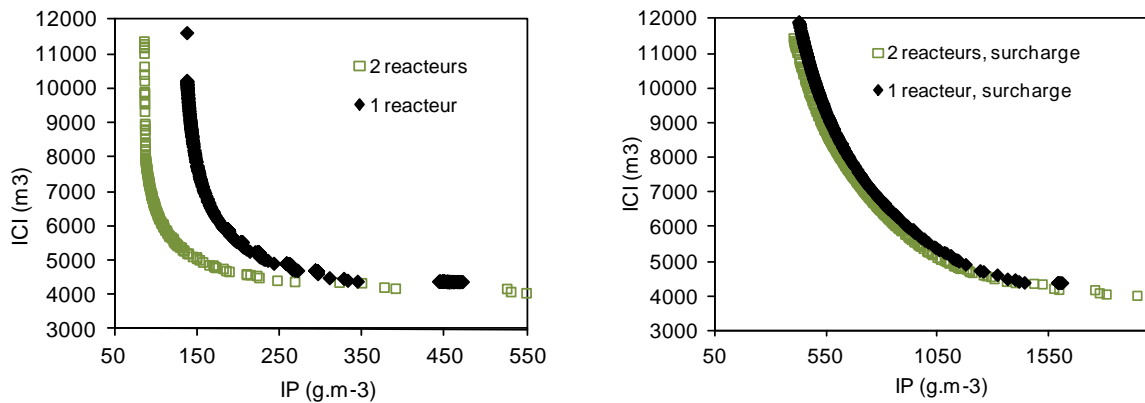


Figure IV.10 : Comparaison des résultats optimaux d'un réacteur unique et de deux réacteurs en série (alimentation au niveau du 1er réacteur) d'un procédé à boues activées en régime permanent (scénarios 1 et 7) et lors d'une surcharge toxique (scénarios 2 et 8)

En outre, la stratégie de l'alimentation fractionnée peut être proposée pour améliorer les performances de traitement par boues activées. Par conséquent, trois scénarios ont été comparés en faisant varier la fraction des affluents qui alimente le premier réacteur (notée x) et en même temps la fraction qui alimente le deuxième réacteur ($1-x$). Les Figure IV.11 et Figure IV.12 montrent les résultats de l'optimisation de trois modes d'alimentation possibles ($x = 0$; $0,5$; 1), à l'état stationnaire (scénarios 3, 7 et 9) et lors d'une surcharge toxique (scénarios 4, 8 et 10).

Alimenter d'une fraction ($x = 0,5$) ou de la totalité ($x = 0$) de l'affluent au niveau du deuxième réacteur est une stratégie avantageuse pour la réduction des volumes et l'augmentation du TRS. La première option est une stratégie d'alimentation, tandis que la deuxième option correspond à un procédé de contact-stabilisation. Les deux conduisent à des MES plus élevés dans le premier réacteur et un TRS plus élevé pour un volume donné. Les meilleures performances (les IP les plus bas et les concentrations en composé xénobiotique les plus faibles) à l'état stationnaire, sont obtenues avec une répartition égale des affluents ($x = 0,5$). Cela pourrait être dû au fait qu'alimenter le deuxième réacteur, permet également de diminuer le temps de séjour de la zone d'alimentation pour le décanteur. Ceci suggère l'existence d'une valeur optimale pour une répartition optimale des eaux usées selon la biocinétique du polluant.

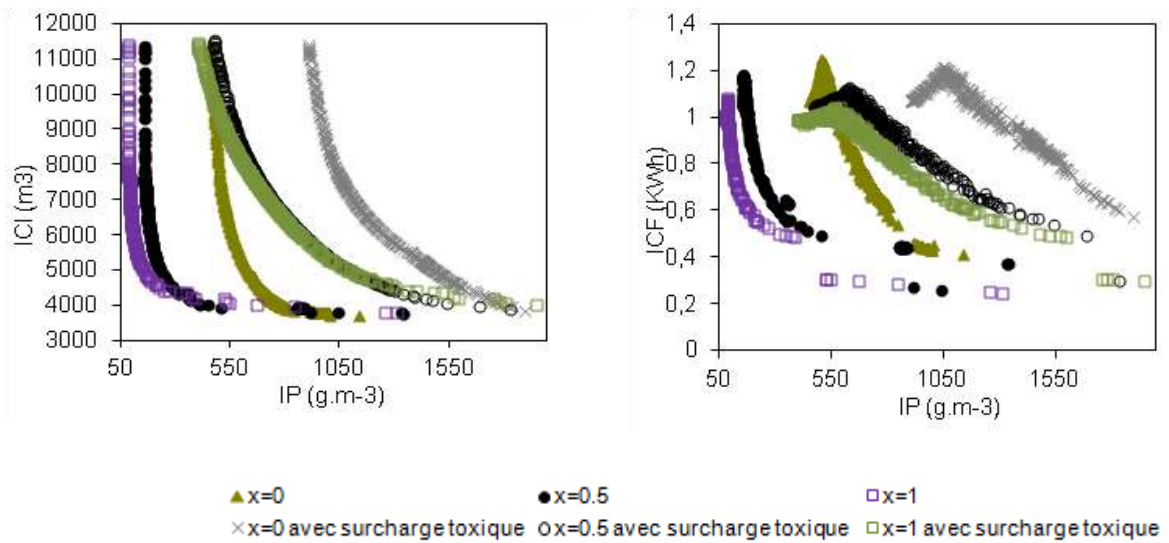


Figure IV.11 : Comparaison des stratégies de fonctionnement en termes d'Indice de Coût d'Investissement (ICI), Indice de Coût de Fonctionnement (ICF) et d'Indice de Pollution (IP)

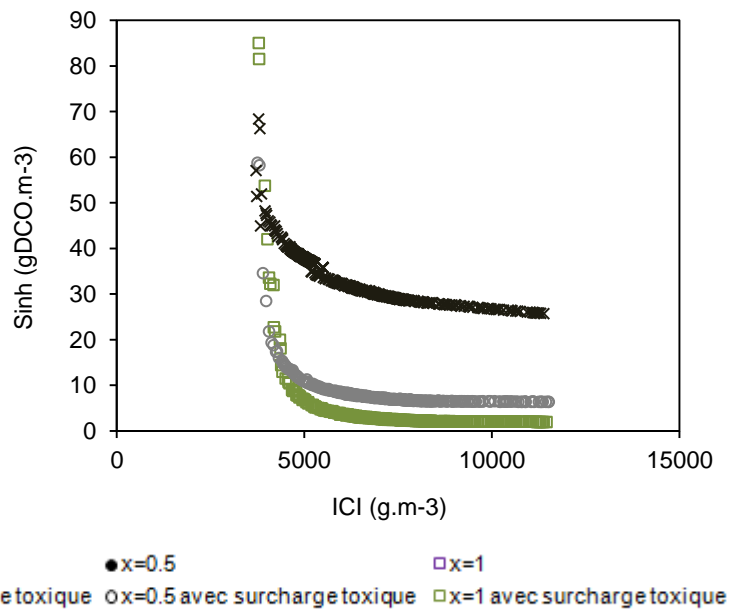


Figure IV.12: Comparaison des paramètres de la concentration résiduelle de la substance toxique (Sinh) pour chaque scénario d'alimentation lors d'une surcharge toxique

Cet aspect devient extrêmement important lors de perturbations de la charge. En recevant la surcharge toxique, les simulations (Figure IV.11 et Figure IV.12) indiquent une détérioration de la qualité de l'effluent, qui est beaucoup plus importante pour $x = 0$, mais similaire pour x

= 1 ou $x = 0,5$. Dans les deux cas, le dimensionnement optimal, qui permet de faire face à cette perturbation, correspond à un TSH légèrement plus élevé par rapport à l'optimum dans des conditions d'un état stationnaire. De plus, les coûts totaux d'exploitation sont faiblement influencés par cette stratégie d'alimentation (contrairement à la stratégie d'augmentation du TRS), car la modification de l'Indice de Pollution est fortement influencée par les substances toxiques qui ne contribuent pas beaucoup à la demande globale en oxygène. Par conséquent, améliorer les performances pourrait être réalisé en mettant en place un procédé optimal à étages multiples pour une exploitation caractérisée par une augmentation raisonnable du coût (Figure IV.10). Cependant, une commande optimale de la répartition de l'alimentation est suggérée afin d'éviter un excès d'alimentation en eaux usées dans le dernier réacteur pendant les périodes de surcharge. Globalement on favorisera le procédé contact-stabilisation en régime stationnaire en alimentant vers le second réacteur (ce qui permet une augmentation de la concentration en biomasse dans le premier réacteur et ainsi de l'âge de boues), et on favorise une alimentation vers le premier réacteur lorsque l'on détecte une surcharge toxique, pour augmenter la capacité de dilution et minimiser les fuites de toxique vers le décanteur.

6.6. Dimensionnement optimal d'un procédé à boues activées en présence d'un micro-polluant hydrophobe : exemple du phénanthrène

6.6.1. Positionnement du problème et modèle utilisé

Le modèle précédent prenait en compte jusqu'ici une molécule hydrophile (pNP) qui ne s'adsorbe pas sur les boues. Cependant il existe aussi toute une gamme de polluants (ou micropolluants) qui sont hydrophobes, et dont une part importante s'adsorbe sur les MES du réacteur. Nous nous sommes donc interrogés sur la manière avec laquelle cette propriété hydrophobe peut modifier notre approche.

Tableau IV.3 : Scénario de conduite du procédé en présence d'un HAP

Scénario n°	x	y	S _{O2}	X _{S_{HAP}}	Perturbation
11	0	0	2	1	0

Le scénario 11 décrit dans le Tableau IV.3 puisque celui-ci prévoit, en plus, la transformation d'une nouvelle molécule d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (HAP) ayant des caractéristiques intrinsèques différentes. Il s'agit d'étudier le système décrit ci-

dessus en considérant l'existence supplémentaire d'un micro-polluant hydrophobe : le phénanthrène dans l'affluent à l'entrée de la station. Par conséquent, le modèle mathématique précédent n'est plus adéquat et nécessite les transformations suivantes (Tableau IV.4). Les nouvelles cinétiques prennent en compte, d'un côté, les phénomènes de décès (ρ_8) et de croissance des hétérotrophes capables de dégrader le $S_{\text{HAP, aq}}$, aussi bien sur le $S_{\text{HAP, aq}}$ (ρ_5) que sur le S_B (ρ_4). D'un autre côté les phénomènes de transfert du phénanthrène de la phase liquide à la phase gaz et de la phase liquide à la phase solide sont décrits respectivement par les équations ρ_{12} et ρ_{13} . Suite à cette nouvelle répartition de la biomasse active en 3 populations, en fonction de leur capacité à croître sur chacun des substrats carbonés : S_B , S_{Inh} et $X S_{\text{HAP}}$; on considère l'hydrolyse du carbone organique particulaire pour la croissance de la nouvelle population hétérotrophes qui dégradent le $S_{\text{HAP, aq}}$ (ρ_{11}).

Un élément nouveau très important dans cette dernière approche a consisté à ajouter dans l'indice de pollution les flux de polluant hydrophobes extraits par les boues ainsi que le flux volatilisé dans l'atmosphère. Tous les processus abiotiques conduisant à un transfert de ce polluant vers l'environnement sont ainsi considérés.

Tableau IV.4 : cinétique du modèle mathématique en présence d'un micropolluant

j	v_{ij}	i	1 S_U	2 S_B	3 S_{Inh}	4 $X_{S_{HAP}}$	5 $X_{U,Inf}$	6 X_{C_B}	7 X_{OHO}	8 X_{IHO}	9 $X_{bio,HAP}$	10 $X_{U,E}$	Vitesse de réaction
1	Croissance aérobie des hétérotrophes classiques sur le S_B			$-\frac{1}{Y_{OHO}}$					1				ρ_1
2	Croissance aérobie des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur sur le S_{Inh}				$-\frac{1}{Y_{Inh,IHO}}$					1			ρ_2
3	Croissance aérobie des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur sur le S_B			$-\frac{1}{Y_{OHO}}$						1			ρ_3
4	Croissance aérobie des hétérotrophes qui dégradent le $S_{HAP,aq}$ sur le $S_{HAP,aq}$					$-\frac{1}{Y_{bio,HAP}}$					1		ρ_4
5	Croissance aérobie des hétérotrophes qui dégradent le $S_{HAP,aq}$ sur le S_B			$-\frac{1}{Y_{OHO}}$							1		ρ_5
6	Décès des hétérotrophes classiques							$1 - f_{X_U}$	-1			f_{X_U}	ρ_6
7	Décès des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur							$1 - f_{X_U}$		-1		f_{X_U}	ρ_7
8	Décès des hétérotrophes qui dégradent le $S_{HAP,aq}$							$1 - f_{X_U}$			-1	f_{X_U}	ρ_8
9	Hydrolyse du carbone organique particulaire pour la croissance des hétérotrophes classiques			1				-1					ρ_9
10	Hydrolyse du carbone organique particulaire pour la croissance des hétérotrophes qui dégradent l'inhibiteur			1				-1					ρ_{10}
11	Hydrolyse du carbone organique particulaire pour la croissance des hétérotrophes qui dégradent le $S_{HAP,aq}$			1				-1					ρ_{11}
12	Transfert L/G (volatilisation de $S_{HAP,aq}$)					-1							ρ_{12}
13	Transfert L/S (adsorption de $X_{S_{HAP}}$)												ρ_{13}

$$X = X_{U,E} + X_{bio,HAP} + X_{OHO} + X_{IHO} + X_{U,Inf}$$

Avec $X_{HAP} = S_{HAP,aq} \cdot K_{pb,HAP} \cdot X$

$$DCO = S_B + S_{Inh} + S_U + S_{HAP,aq} \text{ et } DBO_5 = \frac{DBO_{ultime}}{0.66} = \frac{DCO_B}{0.66} = \frac{S_B + S_{Inh} + S_{HAP,aq}}{0.66}$$

ρ_1	$\mu_{OHO,max} \frac{S_B}{S_B + K_{S,SB,OHO}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,OHO}} \frac{K_{I,OHO}}{S_{Inh} + K_{I,OHO}} X_{OHO}$
ρ_2	$\mu_{IHO,max} \frac{S_{Inh}}{S_{Inh} + K_{S,SInh,IHO} + \frac{S_{Inh}^2}{K_{I,IHO}}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} X_{IHO}$
ρ_3	$\mu_{IHO,max} \frac{S_B}{S_B + K_{S,SB,IHO}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} \frac{K_{I,IHO}}{S_{Inh} + K_{I,IHO}} X_{IHO}$
ρ_4	$k_{b,HAP} \cdot S_{HAP,aq} \cdot X_{bio,HAP} \text{ avec } S_{HAP,aq} = \frac{XS_{HAP}}{1 + K_{pb,HAP} \cdot X}$
ρ_5	$k_{SB,HAP} \cdot S_B \cdot X_{bio,HAP}$
ρ_6	$b_{OHO} X_{OHO}$
ρ_7	$b_{IHO} X_{IHO}$
ρ_8	$b_{bio,HAP} X_{bio,HAP}$
ρ_9	$q_{hyd,OHO} \frac{XC_B/X_{OHO}}{XC_B/X_{OHO} + K_{S,hyd}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,OHO}} X_{OHO}$
ρ_{10}	$q_{hyd,IHO} \frac{XC_B/X_{IHO}}{XC_B/X_{IHO} + K_{S,hyd}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} X_{IHO}$
ρ_{11}	$q_{hyd,IHO} \frac{XC_B/X_{bio,HAP}}{XC_B/X_{bio,HAP} + K_{S,hyd}} \frac{S_{O_2}}{S_{O_2} + K_{O_2,IHO}} X_{IHObio,HAP}$
ρ_{12}	$Q_{air} \cdot S_{HAP,aq} \cdot \frac{H^{\circ}_{HAP}}{R \cdot T}$
ρ_{13}	$XS_{HAP} = S_{HAP,aq} + X_{HAP} = S_{HAP,aq} \cdot (1 + K_{pb,HAP} \cdot X)$

L'introduction d'une nouvelle molécule toxique hydrophobe telle que le phénanthrène nécessite de reconsidérer le calcul de l'IP. L'Équation IV.7 devient alors :

$$IP = \frac{1}{T} \cdot \int_{t_1}^{t_2} \left((\beta_{DCO} \cdot DCO) + (\beta_{DBO_5} \cdot DBO_5) + (\beta_{S_{Inh}} \cdot S_{Inh}) + (\beta_{XS_{HAP}} \cdot IP_{XS_{HAP}}) \right) dt \quad \text{Équation IV.17}$$

$$IP_{XS_{HAP}} = \frac{F_{liq} + F_{gaz} + F_{sd}}{Q_S} \quad \text{Équation IV.18}$$

$$F_{liq} = (K_{pb,HAP} \cdot S_{HAP,aq} \cdot X \cdot Q_p) + (S_{HAP,aq} \cdot Q_p) \quad \text{Équation IV.19}$$

$$F_{gaz} = Q_{air} \cdot \left(S_{HAP,aq} \cdot \frac{H^{\circ}_{HAP}}{R \cdot T} \right) \quad \text{Équation IV.20}$$

$$F_{sd} = Q_S \cdot S_{HAP,aq} \quad \text{Équation IV.21}$$

$\beta_{XS_{HAP}} = 6.7519e + 003$ est obtenu par calcul par rapport à un point central ($\beta_{XS_{HAP}} = \frac{DCO}{IP_{XS_{HAP}}}$) pour donner un poids identique au phénanthrène par rapport aux autres critères.

6.6.2. Effet de la présence du phénanthrène sur le dimensionnement optimal de la STEP

Comparé au scénario de référence, le dimensionnement optimal en présence de cette molécule hydrophobe, nécessite des TRH plus grands et donc des solutions plus extensives, pour un même âge des boues (Figure IV.13). Les TRH passent alors, d'une valeur maximale de 1,305 j à une valeur de 1,914 j.

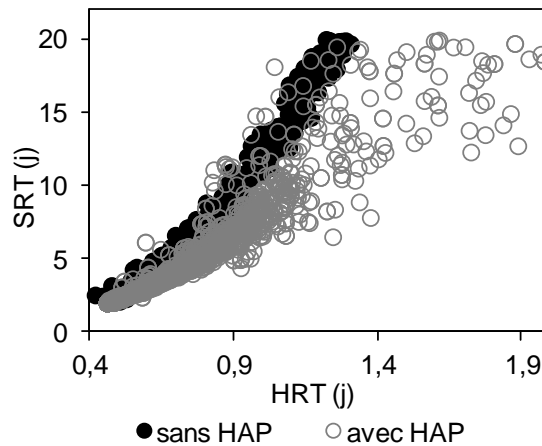


Figure IV.13 : Comparaison des points optimaux de dimensionnement et de fonctionnement de la STEP avec et sans phénanthrène

La Figure IV.14 montre que la concentration en phénanthrène (S_{HAP}) dans l'effluent traité (phase liquide) suit le même comportement que celui du *p*-NP (S_{inh}) et du substrat facilement biodégradable (S_{B}).

Concernant la pollution produite par la phase solide (donc le flux de HAP extrait avec les boues), on remarque d'après la Figure IV.15 que la contribution du phénanthrène solide dans la valeur finale de l'IP (IP_{HAPsd}) augmente avec les MES. Ce qui est assez prévisible puisque, en produisant plus de MES, la quantité de phénanthrène adsorbée est, par conséquent plus importante et on séquestre plus de HAP dans la boue, ce qui limite leur dégradation. Ceci est lié à l'hypothèse de base des modèles de dégradation des molécules hydrophobes : la fraction de HAP disponible pour la dégradation (biodisponible) est la fraction libre, c.-à-d. non adsorbée.

Les points optimaux obtenus sont ainsi caractérisés par des MES qui sont un peu plus faible que pour le scénario 1, environ entre 1750 et 3300 g.m^{-3} contre 1950 et 3600 g.m^{-3} pour le dimensionnement de référence (Figure IV.16). Ce qui fait déplacer les optimums vers un procédé plus grand avec des MES un peu plus faibles, pour le même âge de boues.

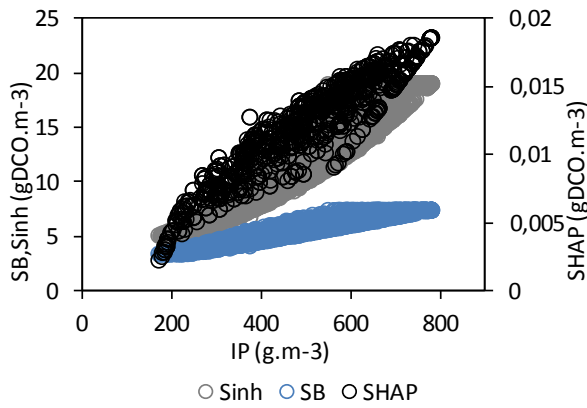


Figure IV.14 : Concentration de la pollution dans la phase liquide à la sortie de la STEP après optimisation

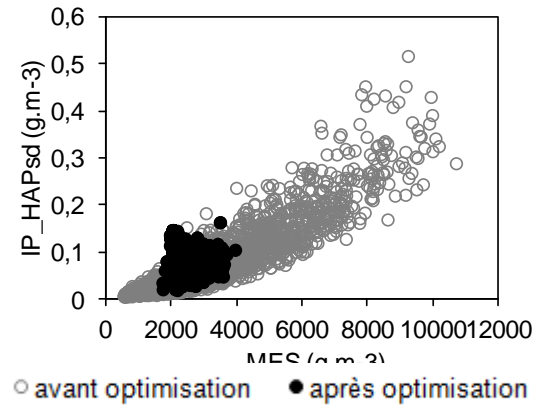


Figure IV.15 : Evolution de la contribution du phénanthrène solide dans l'IP en fonction des MES (avant et après optimisation)

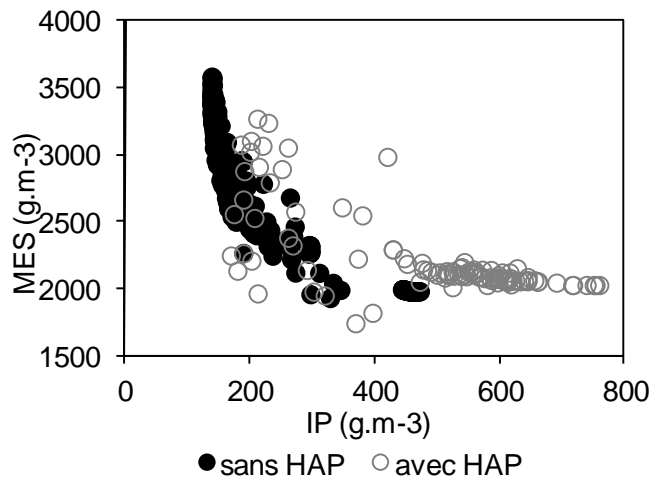


Figure IV.16 : comparaison des MES pour les deux scenarios 1 et 7 (avec et sans HAP)

7. Conclusion

L'optimisation multicritère est un outil performant pour l'évaluation de différentes stratégies de dimensionnement. Ici les différents scénarios ont été appliqués afin d'établir la conception optimale d'une station d'épuration qui reçoit des eaux usées contaminées par des pollutions industrielles contenant une substance toxique et xénobiotique (cas du *p*-NP). Chaque scénario génère un espace de Pareto différent, de points, dont les coordonnées correspondent à un dimensionnement optimal (TSH et TRS) et différents indicateurs ont été

obtenus (Indice de Coût d'Investissement, Indice de Pollution, les concentrations résiduelles de xénobiotiques). Les résultats démontrent l'intérêt de la conception de réacteurs en série avec les stratégies d'alimentation, qui contribuent à accroître les performances avec un impact limité sur les coûts d'investissement et d'exploitation. Par ailleurs, l'augmentation du TRS (et simultanément du TRH) pour un procédé à un seul étage a un impact positif sur l'élimination des substances toxiques (IP) mais augmente considérablement les coûts d'investissement et d'exploitation.

Si le procédé doit être robuste face à une surcharge toxique, il convient que le dimensionnement optimal conduit à des TRH plus élevés. Mais cela peut être atténué par un contrôle approprié de l'aération ou par une stratégie d'alimentation étagée. Le contrôle optimal de la zone d'alimentation des eaux usées devrait être étudié dans le futur.

Il faut noter que ce travail a porté, en premier lieu, sur une molécule hydrophile avec des capacités inhibitrices et la démarche a été étendue à un composé hydrophobe (cas du phénanthrène) qui conduit à des valeurs de dimensionnement légèrement différentes. En effet, ce cas nécessite des TRH plus grands et donc des solutions plus extensives, pour un même âge de boues. Étant donné la capacité de ce type de molécule à s'adsorber, pour assurer une conduite optimale de ce procédé, il est conseillé de stabiliser le réacteur à des MES plus faibles pour éviter de transformer la pollution liquide en pollution solide, qui est plus difficile à dégrader.

Cette approche multicritère et multi-objectifs a permis de retrouver et d'expliquer certains choix empiriques réels (valeur de MES imposées dans les réacteurs pour le dimensionnement à faible ou forte charge par exemple). Les réponses en termes de dimensionnement optimal rejoignent, dans certains cas les valeurs empiriques classiques largement utilisées par les concepteurs des STEP. Mais ce travail montre aussi l'intérêt d'adapter le dimensionnement en fonction du scénario de conduite (étagé, oxygène dissous) et en fonction des enjeux (robustesse face aux perturbations, élimination de différents types de polluants).

La nouveauté apportée par ce travail réside dans l'information quantitative apportée pour chacun des points de fonctionnement, et dans le fait que ce dimensionnement intègre la dynamique des cinétiques microbiennes dans les réacteurs biologiques.

Finalement ce travail pourra aider les concepteurs à améliorer la fiabilité d'une station d'épuration en considérant ce nouvel enjeu des composés toxiques et des micro-polluants.

Conclusion

L'objectif de ce travail était de développer des approches pour la fiabilisation des procédés à boues activées traitant des xénobiotiques inhibiteurs de l'activité microbienne. Pour ce faire, le travail a été divisé en 2 parties.

La démarche expérimentale suivie dans la première partie, a permis d'étudier les cinétiques des populations mixtes dégradant du paranitrophénol (*p*-NP), qui est un xénobiotique difficilement biodégradable, ainsi que leur acclimatation. Un modèle mathématique basé sur le formalisme de Haldane et structuré de manière similaire aux modèles ASM a été développé. Ses paramètres cinétiques ont été estimés à partir d'expériences respirométriques conduites en batch et en fed-batch, à faible rapport substrat / micro-organismes, i.e. $S_{Inh,0}/X_{IHO}(0)$. Cinq procédures différentes d'acclimatation des boues ont été suivies, dans le but de voir l'effet de la variation du rapport entre substrat facilement biodégradable et xénobiotique (noté $R=S_B/S_{Inh}$) sur l'identification paramétrique du modèle d'un côté et sa validation de l'autre. À la fin de chaque procédure d'acclimatation, des injections de *p*-NP, comme unique source de carbone sont effectuées et les paramètres stoechiométriques et cinétiques ($Y_{Inh,IHO}$, $\mu_{IHO,max}$, $K_{S,Sinh,IHO}$ et $K_{I,IHO}$) sont identifiés. Pour ce faire 2 logiciels, Matlab et GPS-X ont été utilisés. Les premières observations concernaient les temps d'injection et les périodes de carence imposées à la biomasse avant chaque réalimentation. Autrement dit, nous nous sommes particulièrement intéressés au phénomène de réactivation du pool enzymatique permettant la biodégradation du *p*-NP par une population acclimatée après une certaine carence. Comment maintenir la biomasse à un niveau d'activation optimal permettant en même temps une dégradation rapide de cette molécule, et un effet mémoire assez long évitant la perte d'activité rapide ? Comment optimiser les phases d'alimentation ? Dans quelle mesure le rapport R pourrait influencer les cinétiques de dégradation ? Quels sont les réels indicateurs de l'acclimatation microbienne ? Quels phénomènes et mécanismes y contribuent effectivement ?

Tout d'abord, les identifications ont donné un rendement de conversion ($Y_{Inh,IHO}$) compris entre 0.39 et 0.63 gDCO.gDCO⁻¹ et un taux de croissance spécifique maximal ($\mu_{IHO,max}$) de X_{IHO} compris entre 1.09 et 2.01 j⁻¹. Plus R est élevé (S_{Inh} faible) et plus les valeurs de ces deux paramètres sont élevés. Par conséquent acclimater des boues activées à de faibles concentrations de *p*-NP pourrait favoriser des phénomènes tels que le cométabolisme ou encore le découplage énergétique lorsqu'on présente à ces microorganismes du *p*-NP seul. Pour éviter ceci, il serait plus judicieux de favoriser des périodes d'acclimatation à faibles $R=S_B/S_{Inh}$. Ensuite le paramètre, jusqu'ici, indicateur du « niveau » d'acclimatation des microorganismes $K_{I,IHO}$ augmente entre 72.4 et 289 mgDCO.l⁻¹, alors que les valeurs de $K_{S,Sinh,IHO}$ varient entre 1.21 et 11.4 mgDCO.l⁻¹ d'une manière décroissante lorsqu'on a conduit un cycle d'acclimatation avec $R=0$ et $S_{Inh}=75$ mgDCO.l⁻¹.

Lors du même cycle, en réinjectant du *p*-NP, après une certaine période de carence, où les microorganismes ne voient aucune autre source de carbone, on a pu remarqué que la désactivation était également relativement rapide.

Finalement, raisonner sur un taux spécifique de dégradation a permis d'avoir une évaluation du niveau d'acclimatation de la biomasse, qui se traduit également, dans le modèle, par l'évolution de la concentration en bactéries adaptées notée (X_{IHO}).

Une fois les paramètres identifiés, et le modèle validé, ce dernier a été utilisé comme base de modélisation afin de simuler le fonctionnement dynamique d'une station d'épuration classique à un et deux réacteurs en série. En se basant sur la réalité des STEP traitant des ERI contenant du *p*-NP, plusieurs scénarios de fonctionnement ont été imaginés. La conception de chacune des opérations unitaires a été revue et optimisée, puisque l'un des premiers freins à la fiabilisation des procédés réside dans la maîtrise des outils de dimensionnement.

Dans la 2^{ème} partie, le défi était d'établir, en régime transitoire, la conception optimale d'une station d'épuration qui reçoit des eaux usées contaminées par des pollutions industrielles contenant du *p*-NP, c.à.d en prenant en compte la dynamique des cinétiques microbiennes. De plus, étant donné les préoccupations nouvelles qui émergent dans les stations d'épuration, il nous est apparu important d'intégrer d'autres questions : Est-il possible d'optimiser le dimensionnement et le fonctionnement des ouvrages de la STEP, en termes de performances et en termes de coûts ? Comment concevoir les procédés tout en contrôlant la consommation d'énergie d'un côté et en réduisant les émissions en xénobiotiques ? Le dimensionnement optimal est-il similaire pour des xénobiotiques hydrophiles et/ou hydrophobes (tels que les HAPs) ?

Il s'agit là d'un problème d'optimisation multiobjectif. Nous l'avons formulé en choisissant deux paramètres majeurs choisis lors du dimensionnement : le temps de rétention hydraulique (TRH) et le temps de rétention des solides (TRS). Chaque scénario proposé, génère un espace de Pareto différent, de $M= 3000$ points, dont les coordonnées (TRH et TRS) correspondent à un dimensionnement optimal. Les critères considérés étaient : l'Indice de Coût d'Investissement et l'Indice de Pollution, sous certaines contraintes technologiques de temps de séjours hydraulique et des solides, de débit d'alimentation et de purge. Un autre paramètre, appelé Indice de Coût de Fonctionnement (ICF), a été suivi. Il représente la puissance consommée par le système d'aération.

Cette nouvelle approche, permet, non seulement, l'apport d'information quantitative, pour chacun des M points, mais aussi d'intégrer la dynamique des cinétiques microbiennes dans dimensionnement.

Les résultats obtenus confirment tout d'abord que les faibles temps de séjours (TRH, TRS) (dimensionnement à forte charge), conduisent aux performances les plus faibles (plus forts Indices de Pollution IP) et aussi aux Coûts d'Investissement (ICI) les plus faibles. Augmenter le TRS (et simultanément du TRH) engendre une diminution de l'impact du rejet sur les milieux récepteurs, tandis que les indices de coûts augmentent. Une alternative intéressante pour l'optimisation est une conception de réacteurs en série qui permet d'améliorer les performances épuratoires du procédé avec un impact limité sur les coûts d'investissement et d'exploitation.

Sachant que certaines STEP traitant des ERI sont ponctuellement confrontées à des surcharges en composés toxiques ou à l'introduction d'une nouvelle molécule hydrophobe de type HAP, comme le phénanthrène, en industrie pétrolières, des scénarios simulant ces fonctionnements ont été prévus. Si le procédé doit être robuste face à une surcharge toxique, ou doit faire face à une nouvelle molécule telle que le phénanthrène, il convient que le dimensionnement optimal conduit à des solutions plus extensives (TRH plus grands) pour un même âge des boues. Dans le premier cas, un contrôle adéquat de l'aération ou le fractionnement de l'alimentation dans les bassins d'aération, constitue une alternative à des ouvrages coûteux. À savoir que, dans certains cas, le coût où les dimensions du terrain freineraient une solution extensive. Un contrôle adaptatif basé sur une consigne d'oxygène dissous variable est alors une alternative dont le bénéfice est quantifiable par l'outil de simulation. L'optimisation permet également de prendre en compte l'augmentation (limitée) de consommation d'énergie associée à une augmentation de la consigne.

En outre, ce travail pourra aider les concepteurs à améliorer la fiabilité d'une station d'épuration en considérant ce nouvel enjeu des composés toxiques et des micro-polluants. En effet, les HAPs ont la spécificité de s'adsorber plus ou moins facilement aux matières en suspension, ce qui limite leur biodégradation. Cette caractéristique peut être prise en compte lors du dimensionnement en favorisant les faibles charges en contrôlant la stabilisation des MES autour d'une valeur assez faible, pour éviter un transfert trop important des molécules hydrophobes vers la boue conduisant à une diminution de sa bio-accessibilité et un ralentissement de sa biodégradation.

Cette approche d'optimisation multi-objectifs, en dynamique, a permis de mieux comprendre le choix de certaines valeurs empiriques de dimensionnement telles que les MES en fonction de la charge. Les réponses obtenues, en fonction des scénarios et des enjeux, rejoignent largement les valeurs classiques de dimensionnement, dans certains cas.

Les résultats obtenus ont engendré certaines interrogations et ouvert bon nombre de perspectives.

Tout d'abord, concernant les phénomènes d'activation/désactivation de l'acclimatation, il serait intéressant de pouvoir les intégrer, en régime transitoire, dans les modèles mathématiques classiques. Pour l'instant la complexité réside dans la difficulté à dissocier, d'une manière catégorique, sur l'échelle temps et d'un point de vue mécanistique, les phénomènes qui entrent en jeu. En outre, d'un point de vue purement conceptuel, l'acclimatation pourrait être considérée comme étant une caractéristique intrinsèque, propre à une population spécifique ; ou un potentiel également réparti parmi les différentes populations.

Des changements lents du taux spécifique de dégradation du p -NP pourraient être modélisés, en partie, à l'aide d'un formalisme de croissance et de décès. Tandis que concernant des changements plus rapides, une première étape, serait d'intégrer la dynamique de la « constante » d'inhibition ($K_{I,IHO}$) et par la suite celle de la constante de demi-saturation ($K_{S,Sinh,IHO}$). Mais si ces approches peuvent permettre de mieux décrire les dynamiques observées lors d'une acclimatation en batch, il est difficile de garantir qu'elles seront extrapolables à d'autres conditions notamment continues.

D'un point de vue purement théorique il peut être intéressant d'évaluer alors quelles vont être les incidences sur le dimensionnement optimal de la STEP.

Lors de l'optimisation du dimensionnement et du fonctionnement du procédé à boues activées, les seules variables d'action sur le procédé étaient dans ce travail les temps de séjours. Certaines contraintes, telle que la stratégie d'alimentation multiple, la zone d'alimentation, ou sorties tel que le contrôle de l'aération peuvent devenir des critères d'optimisation.

À terme, les résultats de dimensionnement obtenus en dynamique, pourraient expliciter de plus en plus les critères de dimensionnement classique qui prennent des facteurs de sécurité empiriques. En effet, c'est un outil puissant, développé dans cette étude, rétablissant les corrélations directes avec les biocinétiques des boues. Dans une prochaine étape, il serait intéressant de pouvoir intégrer l'hydrodynamique à l'intérieur des différents types de réacteurs biologiques.

Les résultats obtenus confirment tout d'abord que les faibles temps de séjours (TRH, TRS) (dimensionnement à forte charge), conduisent aux performances les plus faibles (plus forts Indices de Pollution IP) et aussi aux Coûts d'Investissement (ICI) les plus faibles. Augmenter le TRS (et simultanément du TRH) engendre une diminution de l'impact du rejet sur les milieux récepteurs, tandis que les indices de coûts augmentent. Une alternative intéressante pour l'optimisation est une conception de réacteurs en série qui permet

d'améliorer les performances épuratoires du procédé avec un impact limité sur les coûts d'investissement et d'exploitation.

Sachant que certaines STEP traitant des ERI sont ponctuellement confrontées à des surcharges en composés toxiques ou à l'introduction d'une nouvelle molécule hydrophobe de type HAP, comme le phénanthrène, en industrie pétrolières, des scénarios simulant ces fonctionnements ont été prévus. Si le procédé doit être robuste face à une surcharge toxique, ou doit faire face à une nouvelle molécule telle que le phénanthrène, il convient que le dimensionnement optimal conduit à des solutions plus extensives (TRH plus grands) pour un même âge des boues. Dans le premier cas, un contrôle adéquat de l'aération ou le fractionnement de l'alimentation dans les bassins d'aération, constitue une alternative à des ouvrages coûteux. À savoir que, dans certains cas, le coût où les dimensions du terrain freineraient une solution extensive. Un contrôle adaptatif basé sur une consigne d'oxygène dissous variable est alors une alternative dont le bénéfice est quantifiable par l'outil de simulation. L'optimisation permet également de prendre en compte l'augmentation (limitée) de consommation d'énergie associée à une augmentation de la consigne.

En outre, ce travail pourra aider les concepteurs à améliorer la fiabilité d'une station d'épuration en considérant ce nouvel enjeu des composés toxiques et des micro-polluants. En effet, les HAPs ont la spécificité de s'adsorber plus ou moins facilement aux matières en suspension, ce qui limite leur biodégradation. Cette caractéristique peut être prise en compte lors du dimensionnement en favorisant les faibles charges en contrôlant la stabilisation des MES autour d'une valeur assez faible, pour éviter un transfert trop important des molécules hydrophobes vers la boue conduisant à une diminution de sa bio-accessibilité et un ralentissement de sa biodégradation.

Cette approche d'optimisation multi-objectifs, en dynamique, a permis de mieux comprendre le choix de certaines valeurs empiriques de dimensionnement telles que les MES en fonction de la charge. Les réponses obtenues, en fonction des scénarios et des enjeux, rejoignent largement les valeurs classiques de dimensionnement, dans certains cas.

Les résultats obtenus ont engendré certaines interrogations et ouvert bon nombre de perspectives.

Tout d'abord, concernant les phénomènes d'activation/désactivation de l'acclimatation, il serait intéressant de pouvoir les intégrer, en régime transitoire, dans les modèles mathématiques classiques. Pour l'instant la complexité réside dans la difficulté à dissocier, d'une manière catégorique, sur l'échelle temps et d'un point de vue mécanistique, les phénomènes qui entrent en jeu. En outre, d'un point de vue purement conceptuel,

l'acclimatation pourrait être considérée comme étant une caractéristique intrinsèque, propre à une population spécifique ; ou un potentiel également réparti parmi les différentes populations.

Des changements lents du taux spécifique de dégradation du p -NP pourraient être modélisés, en partie, à l'aide d'un formalisme de croissance et de décès. Tandis que concernant des changements plus rapides, une première étape, serait d'intégrer la dynamique de la « constante » d'inhibition ($K_{i, IHO}$) et par la suite celle de la constante de demi-saturation ($K_{S, Sinh, IHO}$). Mais si ces approches peuvent permettre de mieux décrire les dynamiques observées lors d'une acclimatation en batch, il est difficile de garantir qu'elles seront extrapolables à d'autres conditions notamment continues.

D'un point de vue purement théorique il peut être intéressant d'évaluer alors quelles vont être les incidences sur le dimensionnement optimal de la STEP.

Lors de l'optimisation du dimensionnement et du fonctionnement du procédé à boues activées, les seules variables d'action sur le procédé étaient dans ce travail les temps de séjours. Certaines contraintes, telle que la stratégie d'alimentation multiple, la zone d'alimentation, ou sorties tel que le contrôle de l'aération peuvent devenir des critères d'optimisation.

À terme, les résultats de dimensionnement obtenus en dynamique, pourraient expliciter de plus en plus les critères de dimensionnement classique qui prennent des facteurs de sécurité empiriques. En effet, c'est un outil puissant, développé dans cette étude, rétablissant les corrélations directes avec les biocinétiques des boues. Dans une prochaine étape, il serait intéressant de pouvoir intégrer l'hydrodynamique à l'intérieur des différents types de réacteurs biologiques.

Références bibliographiques

- AFNOR T 90-320, 1991, Essais des eaux, Détermination de l'inhibition de la luminescence de *Photobacterium phosphoreum*. Association française de normalisation, Paris.
- AFNOR, Collection of French Standard Methods 1994: Water Quality (Environment). AFNOR, ed., Paris, France.
- Aiba, S., Shoda, M., Nagatani, M., 1968. Kinetics of product inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* 10 p. 845.
- Alsop G.M., Waggy G.P., Conway R.A., Baterial growth inhibition test, 1980, *J. Water Pollut. Ccontrol Fed.*, 52, 10, pp. 2452-2456.
- American Public Health Association (APHA), 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. Washington DC USA, 19th edn.
- Andersson J., a survey of multiobjective optimization in engineering design, technical report LiTH-IKP-R-1097, Department of Mechanical Engineering, Linköping University, Linköping, Sweden (2000).
- Andrews, J.F., 1968. A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibiting substrates. *Biotechnol. Bioeng.*, 10, pp. 707-723.
- Anselmo, A. M., Mateus, M., Cabral, J. M. S. and Novais, J. M., 1985. Degradation of phenol by immobilized cells of *Fusarium flocciferum*. *Biotechnol. Lett.* 7 (12): 889-894.
- Aragonés-Beltrán, P., Mendoza-Roca, J.A., Bes-Piá, A., García-Melón, M., Parra-Rui, E., 2009, Application of multicriteria decision analysis to jar-test results for chemicals selection in the physical–chemical treatment of textile wastewater, *Journal of Hazardous Materials*, 164 (1), pp. 288-295
- Bamforth, S.M. and Singleton, I., 2005. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions, *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 80, pp. 723-736.
- Basseur M., 2005, Conception d'algorithmes coopératifs pour l'optimisation multi-objectif : Application aux problèmes d'ordonnancement de type Flow-shop, Thèse de Doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille, Villeneuve d'Ascq, France.
- Beraud B., 2009, Méthodologie d'optimisation du contrôle/commande des usines de traitement des eaux résiduaires urbaines basée sur la modélisation et les algorithmes génétiques multi-objectifs, these de Doctorat, Université Montpellier II, France.
- Bhatti, Z.I., Toda, H., Furukawa, K., 2002. p-nitrophenol degradation by activated sludge attached on nonwovens. *Water Research* 36,1135-1142.
- Blum D.J.W., Speece R.E., Determining chemical toxicity to aquatic species, 1990, *Environ. Sci. Techn.*, 24(3), pp284-293.
- Bonomi E., Lutton J.L., Le recuit simule, *Pour la Science*, vol.129, juillet 1988, pp.68-77, 1988.

- Branke, J., Deb, K., Dierolf, H., Osswald, M., 2004, Finding knees in multi-objective optimization, Parallel problems solving from nature, LNCS, Springer, pp. 722–731
- Bugg, T. D. H. and Winfield, C. J., 1998. Enzymatic cleavage of aromatic rings: mechanistic aspects of the catechol dioxygenases and later enzymes of bacterial oxidative cleavage pathways. *Nature Prod. Rep.* 15, pp.513-530.
- Buitron, G. and Monero, J., 2004. Modelling the acclimation/deacclimation process of a mixed culture degrading 4-chlorophenol. *Water Science and Technology* 49(1), 79-86.
- Buswell, J. A. (1975). Metabolism of phenol and cresols by *Bacillus stearothermophilus*. *J. Bacteriol.* 124: 1077-1083.
- Carvalho, G., Nopens, I., Novais, J.M., Vanrolleghem, P.A. and Pinheiro, H.M., 2001. Modelling of activated sludge acclimatisation to a non-ionic surfactant. *Water Science and Technology* 43(7), 9-17.
- Carvalho, G., Novais, J.M., Pinheiro, H.M., Vanrolleghem, P.A., 2004. Model development and application for surfactant biodegradation in an acclimating activated sludge system. *Chemosphere*, 54, 1495-1502.
- Carvalho, G., Novais, J.M., Vanrolleghem, P.A., Pinheiro, H.M., 2002. Optimal operation for timely adaptation of activated sludge plants to changes in the surfactant composition of wastewater. *Wat. Sci. Tech.*, 45(4-5), 345-353.
- Cerniglia, C.E., 1992. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons, *Biodegradation* 3 pp. 351-368.
- Cervantes, F.J., Pavlostathis, S.G., Adrianus, Van Haandel, C., 2006. Advanced biological treatment processes for industrial wastewaters: principles and applications. IWA Publishing, Edition: illustrated. ISBN 1843391147, 9781843391142, p.p., 34-35.
- Cho, Y-G., Rhee, S-K. and Lee, S-T. (2000). Influence of phenol on biodegradation of p-nitrophenol by freely suspended and immobilized *Nocardioides* sp. NSP41. *Biodegrad.* 11: 21-28.
- Chong, N.M, Chang, H.W., 2009. Plasmid as a measure of microbial degradation capacity for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, *Bioresource Technology* 100, pp. 1174-1179.
- Chong, N.M., Huang, W.S., Chen, Y.S., 2008. Loss of degradation capacity of activated sludge for a xenobiotic after a period without its influent. *Bioresource Technology* 99(18), 8729-8734.
- Chudoba, P., Capdeville, B., Chudoba, J., 1992. Explanation of biological meaning of the S₀/X₀ ratio in batch cultivation. *Water Science and Technology* 26(3-4), 743-751.
- Chung, T-P., Wu, C-Y., Juang, R-S., 2005. Improved dynamic analysis on cell growth with substrate inhibition using two-phase models. *Biochemical Engineering Journal* 25, 209-217.
- Coello C., 1999. An Updated Survey of Evolutionary Multiobjective Optimization Techniques: State of

- the Art and Future Trends, Congress on Evolutionary Computation, IEEE Service Center, Washington D.C. ,July, pages 3- 13.
- Coello CA; 2000, List of references on evolutionary multiobjective optimization. <http://www.lania.mx/ccoello/EMOO/EMOObib.html>.
- Coello Coello C. A., 2000; Handling Preferences in Evolutionary Multiobjective Optimization: A Survey, Congress on Evolutionary Computation, San Diego, California, July.
- Coello Coello, C.A., Van Veldhuizen, D.A., Lamont, G.B., editors, 2002. Evolutionary algorithms for solving multi-objective problems. Kluwer Academic Pres.
- Cokgor, E.U, Insel, G., Katipoglu, T., Orhon, D., Biodegradation kinetics of peptone and 2,6-dihydroxybenzoic acid by acclimated dual microbial culture, *Bioresource Technology*,102 (2), 2011,pp. 567-575
- Colette Y., Siarry P., Optimisation multiobjectif, 2002, Ed. EYROLLES.
- Contois, D., 1959, Kinetics of bacterial growth relationship between population density and specific growth rate of continuous cultures. *J. Gen. Microbiol.*, 21, pp. 845-864.
- Contreras, E.M., Albertario, M.E., Bertola, N.C., Zaritzky, N.E., 2008. Modelling phenol biodegradation by activated sludges evaluated through respirometric techniques. *J. Hazard. Mater.* 258, 366-374.
- Crémieux A., Chevalier J., Sharples D., Berny H., Galy A.M., Brovant P., Galy J.P., Barbe J., Antimicrobial activity of 9-oxo and 9-thio acridines : correlation with intercalation into DNA and effects on macromolecular biosynthesis, 1995, *Res. Microbiol.*, 146, pp 73-83.
- Crouch, S.P., Kozlowski, R., Slater, K.J. et Fletcher J., 1993, The use of ATP bioluminescence as a measure of cell proliferation and cytotoxicity. *J. Immunol. Meth.*, 160,pp. 81-88.
- Dalzell, D. J. B., Alte, S., Aspichueta, E., De la Sota, A., Etxebarria, J., Gutierrez, M., Hoffmann, C. C., Sales, D., Obst, U., Christofi, N., 2002, A comparison of five rapid direct toxicity assessment methods to determine toxicity of pollutants to activated sludge, *Chemosphere*, 47(5), pp. 535-545.
- Dalzell, D.J.B, Christofi, N., 2002, An ATP luminescence method for direct toxicity assessment of pollutants impacting on the activated sewage sludge process, *Water Research*, 36 (6), pp. 1493-1502.
- Dang, J.S., Harvey, D.M., Jobbagy, A., Grady, C.P.L.Jr., 1989. Evaluation of biodegradation kinetics with respirometric data. *Research Journal Water Pollution Control Federation* 61, 1711-1721.
- De Weck O, 2004, Multi-objective optimization: history and promise, invited keynote paper, GL2-2. In: The third China–Japan–Korea joint symposium on optimization of structural and mechanical systems, Kanazawa, Japan, p. 1–14.

- Deb. K., 2001. Multi-objective optimization using evolutionary algorithms. John Wiley and sons.
- Dhaenens-Flipo C., 2005, Optimisation combinatoire multi-objectif : Apport des méthodes coopératives et contribution à l'extraction de connaissances, Thèse d'Habilitation à Diriger les Recherches, Université des Sciences et Technologies de Lille, Villeneuve d'Ascq, France, 2005.
- Dietz, A., Azzaro-Pantel, C., Pibouleau, L., Domenech, S., 2008, Strategies for multiobjective genetic algorithm development: Application to optimal batch plant design in process systems engineering, *Computers & Industrial Engineering*, 54(3), pp. 539-569
- Dikshitulu, S., Baltzis, B. C., Lewandowski, G. A. and Pavlou, S., 1993, Competition between two microbial populations in a sequencing fed-batch reactor: theory, experimental verification, and implications for waste treatment applications. *Biotechnol. Bioeng.* 42: 643-656.
- Directive directive 2000/60/CE du 23 octobre 2000 (DCE)
- Dochain, D., Vanrolleghem, P.A., Van Daele, M., 1995. Structural identifiability of biokinetic models of activated sludge respiration. *Water Research* 29(11), 2571-2578.
- Document technique FNDAE n° 16, 1994, La décantation lamellaire des boues activées, CEMAGREF, Division Qualité des Eaux (Lyon (FRA)) , Paris [FRA] : FNDAE.
- Document technique FNDAE n° 26, Insufflation d'air fines bulles. Application aux stations d'épuration en boues activées des petites collectivités CEMAGREF, Division Qualité des Eaux (Lyon (FRA)) , Paris [FRA] FNDAE.
- Dorigo M., Maniezzo V., Colorni A, 1996, The ant System: optimization by a colony of cooperating agents, *IEEE Transactions on Systems, Man, and Cybernetics-Part B*, 26, 1, pages 29-41.
- Dupas R., 2004. Amélioration de performance des systèmes de production: apport des algorithmes évolutionnistes aux problèmes d'ordonnancement cycliques et flexibles, Thèse d'Habilitation à Diriger les Recherches, Université d'Artois, France.
- Dutka B.J., Nyholm N., Peterson J., Comparison of several microbiological toxicity screening tests, 1983, *Wat. Res.*, 17(10), pp 1363-1368.
- Edgar T.F., Himmelblau D.M., Lasdon L.S., 2001, *Optimization of Chemical Processes* (2nd edition), McGraw-Hill.
- Edgeworth F.Y., 1881, *Mathematical Physics*. P. Keagan, London.
- Edwards, V.H., 1970. The influence of high substrate concentration on microbial kinetics. *Biotechnol. Bioeng.* 12, p. 679.
- Ehrgott M., Gandibleux X., A survey and annotated bibliography of multiobjective combinatorial optimization, 2000, *OR spektrum*, 22, pp. 425-460.

- Ekama, G.A., Sötemann, S.W., Wentzel M.C., 2007. Biodegradability of activated sludge organics under anaerobic conditions. *Water Research* 41(1), 244-252.
- Ellis, L.B.E., Roe, D., Wackett, L.P., 2006. The university of Minnesota biocatalysis/biodegradation database: the first decade, *Nucleic Acids Res.* 34, pp. D517-D521.
- Ellis, T.G., Smets, B.F., Magbanua, B.S.Jr., Grady, C.P.L.Jr., 1996. Changes in measured biodegradation kinetics during the long-term operation of completely mixed activated sludge (CMAS) bioreactors. *Water Science and Technology* 34(5-6), 35-42.
- EPA (Environmental Protection Agency), 1980. Ambient water quality for nitrophenols. EPA-440/5 80-063, Washington, DC, USA.
- Eshelman L.J., Caruana R.A., Schaffer J.D., 1989, Biases in the crossover landscape. In J.D. Schaffer (Ed.), *Proceedings of 3rd International Conference on Genetic Algorithms*, Morgan Kaufman, San Mateo, CA, pp. 10-19.
- Farrell, A. and Quilty, B., 1999, Degradation of mono-chlorophenols by a mixed microbial community via a meta-cleavage pathway. *Biodegradation*, 10: 353-362.
- Feist, C. and Hegeman, G. D., 1969, Phenol and benzoate metabolism by *Pseudomonas putida*: regulation of tangential pathways. *J. Bacteriol.* 100: 869-877.
- Fleurette J., Freney J., Reverdy M.E., 1995, *Antiseptie et désinfection*, Ed. ESKA.
- Fogel L. J., Owens A.J., Walsh M.J., 1966, *Artificial Intelligence Through Simulated Evolution*. New York: Wiley Publishing.
- Folsom, B. R., Chapman, P. J. and Pritchard, P. H., 1990, Phenol and trichloroethylene degradation by *Pseudomonas cepacia* G4: Kinetics and interactions between substrates. *Appl. Environment. Microbiol.* 56: 1279-1285.
- Fonseca, C. M., and Fleming, P. J., 1993. Genetic algorithms for multiobjective optimization: Formulation, discussion and generalization, *Genetic Algorithms: Proceedings of the Fifth International Conference* (S. Forrest, ed.), pp. 416-423, San Mateo, CA: Morgan Kaufmann.
- Fonteix, C., F. Bicking, E. Perrin and I. Marc ,1995, Haploid and diploid algorithms, a new approach for global optimization: compared performances. *International Journal of systems Science.*, 26, 1919-1933.
- Gaal, A. and Neujahr, H. Y., 1979, Metabolism of phenol and resorcinol in *Trichosporon cutaneum*. *J. Bacteriol.* 137: 13-21.
- Gandibleux X., Fréville A., 2000, Tabu Search Based Procedure for Solving the 0-1 MultiObjective Knapsack Problem : the two objectives case. *Journal of Heuristics*, 6 (3) 361-383, 2000.
- Gemini, V.L., Gallego, A., de Oliveira, V.M., Gomez, C.E., Manfio, G.P., Korol S.E., 2005. Biodegradation and detoxification of p-nitrophenol by *Rhodococcus wratislaviensis*.

- International Biodeterioration & Biodegradation 55, 103-108.
- Gibson, D.T., Wood, J.M., Chapman; P.J., Dagne, S., 1967. Bacterial degradation of aromatic compounds, *Biotechnol. Bioeng.* IX, pp. 33-44.
- Gleason, F.K., Baxa, C.A., 1986, *FEMS Microbiol. Lett.*, 33, pp. 85-88.
- Gogate, P.R. and Pandit, A., 2004. A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions, *Adv. Environ. Res.* 8, pp. 501-551.
- Goldberg D.E., 1989. *Genetic Algorithms in Search, Optimization and Machine Learning*, Addison-Wesley, Massachusetts.
- Gomez, A., Pibouleau, L., Azzaro-Pantel, C., Domenech, S., Latgé, C., Haubensack, D., 2010, Multiobjective genetic algorithm strategies for electricity production from generation IV nuclear technology, *Energy Conversion and Management*, 51 (4), pp. 859–871
- Götz, P. and Reuss, M., 1997, Dynamics of microbial growth: modelling time delays by introducing a polymerization reaction. *J. Biotechnol.* 58: 101-114.
- Gourdon R., Aide à la définition des déchets dits biodégradables, fermentescibles, méthanisables, compostables, février 2002, étude N° 00-0118/1A, association RECORD, LAEPSI, INSA de Lyon, France.
- Grady, C.P.L., Smets, B.F., Barbeau, D.S., 1996. Variability in kinetic parameter estimates : a review of possible causes and a proposed terminology. *Water Research* 30(3), 742-748.
- Grady, C.P.L., Lim Jr., H.C., 1980. *Biological wastewater treatment-theory and applications*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Gujer, W., Henze, M., Mino, T., Van Loosdrecht, M.C.M., 1999. Activated Sludge Model No. 3. *Water Science and Technology* 39(1), 183-193.
- Gupta, V.K., Ali, I., Saini, V.K., 2004. Removal of chlorophénols from wastewater using red mud: an aluminum industry waste. *Environ. Sci. Technol.* 38 (14), 4012-4018.
- Guria, C., Bhattacharya, P. K., Gupta S. K., 2005. Multi-objective optimization of reverse osmosis desalination units using different adaptations of the non-dominated sorting genetic algorithm (NSGA) Original Research Article. *Computers & Chemical Engineering*, 29 (9), pp 1977-1995.
- Guria, C., Bhattacharya, P.K., Gupta, S.K., 2005. Multi-objective optimization of reverse osmosis desalination units using different adaptations of the non-dominated sorting genetic algorithm (NSGA). *Comput. Chem. Eng.* 29, 1977–1995
- Gutiérrez M., Etxebarria J., De Las Fuentes L., Evaluation of wastewater toxicity : comparative study between Microtox and activated sludge oxygen uptake inhibition, 2002, *Wat. Res.*, 36, pp 919-924

- Haldane, J.B.S., 1965. Enzymes. Cambridge MA.,MIT Press, p. 84.
- Halsall-Whitney H., Taylor D., Thibault J., 2003. Multicriteria optimization of gluconic acid production using net flow. *Bioprocess Biosystem Engineering*, 25, 299-307.
- Halsall-Whitney H., Thibault J., 2006, Multi-objective optimization for chemical processes and controller design: Approximating and classifying the Pareto domain, *Computers & Chemical Engineering*. 30(6-7) (2006) 1155-1168.
- Hamdi, M., 1995. Biofilm thickness effect on the diffusion limitation in the bioprocess reaction: Biofloc critical diameter significance. *Bioprocess and Biosystem Engineering* 12(4),1615-7591.
- Han, K., Levenspiel, O., 1988. Extended Monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition, *Biotechnology and Bioengineering* 32, pp. 430-437.
- Henriques, I. D.S., Holbrook, R. D., Kelly II, R.T., Love, N.G., 2005. The impact of floc size on respiration inhibition by soluble toxicants-a comparative investigation. *Water Research* 39(12), 2559-2568.
- Henze M., Grady C.P.L., Gujer W., Marais G.v.R., Matsuo T., 1987. Activated Sludge Model No. 1. Technical Report No.1, IAWQ, London.
- Heuvel J.C.V.D., Beftink H.H., 1988. Kinetic effects of simultaneous inhibition by substrate and product, *Biotechnology and bioengineering*, 31, pp. 718-724.
- Hill, G. A. and Robinson, C. W., 1975. Substrate inhibition kinetics: phenol degradation by *pseudomonas putida*. *Biotechnol. Bioeng.* 17: 1599-1615.
- Hofmann, K. H. and Kruger, A., 1985. Induction and inactivation of phenol hydroxylase and catechol oxygenase in *Candida maltosa* L4 in dependence on the carbon source. *J. Basic Microbiol.* 25: 373-379.
- Holland J.H., Holyoak K. J., Nisbett R. E., Thagard P. R., 1986, *Induction: processes of Inference, Learning and Discovery*, Cambridge MA, MIT Press.
- Holland, J. H., *Adaptation in Natural and Artificial System*, Ann Arbor, Michigan: The University of Michigan Press (1975).
- Hughes, E. J., Bayly, R. C. and Skurray, R. A., 1984, Evidence for isofunctional enzymes in the degradation of phenol, m-and p-toluic acid, and p-cresol via catechol meta cleavage pathways in *Alcaligenes eutrophus*. *J. Bacteriol.* 158: 79-83.
- Hugo W.B., Russel A.D., 1992, Mode of action of non-antibiotic antibacterial agents, WB Hugo, AD Russel (eds) *Pharmaceutical Microbiology*. Oxford, Blackwell Scien. Publ., pp 288-294.
- Hwang C., Paidy S., Yoon K., 1980, Mathematical programming with multiple objectives: a tutorial," *Computers & Operations Research*, vol. 7, pp. 5-31.

- Hydromantis, Inc., GPS-X 4.0.2-User's Guide and Technical Reference, Hydromantis, Inc., Hamilton, Ontario (2002).
- Isermann H, 1974, Proper efficiency and the linear vector maximum problem. *Operations Research* 22:189-191
- ISO 11348, 2007, Qualité de l'eau -- Détermination de l'effet inhibiteur d'échantillons d'eau sur la luminescence de *Vibrio fischeri* (Essai de bactéries luminescentes) Partie 3: Méthode utilisant des bactéries lyophilisées, 23 pages
- ISO 8192, 1986, Water quality-test for inhibition of oxygen consumption by activated sludge, 9 pages.
- Kadiyala, V., Smets, B. F., Chandran, K., Spain, J. C., 1998. High affinity p-nitrophenol oxidation by *Bacillus sphaericus* JS905. *FEMS Microbiology Letters* 166 (1),115-120.
- Keeney R.L., Raiffa H., 1993. Decisions with multiple objectives : preferences and value tradeoff, Ed. Cambridge University Press.
- Kelcka G.M., Landi L.P., Evaluation of the OCDE activated sludge respiration inhibition test, 1985, *Chemo.*, 14(9), pp 1239-1251.
- Komly, C-E, Azzaro-Pantel, C., Hubert, A., Pibouleau, L., Archambault, V., 2012, Multiobjective waste management optimization strategy coupling life cycle assessment and genetic algorithms: Application to PET bottles, *Resources, Conservation and Recycling*, 69, pp. 66-81
- Kong Z., Vanrolleghem P., Verstaete W., Automated respiration Inhibition Kinetics Analysis (ARIKA)^o, with a respirographic biosensor, 1994, *Wat. Sci. Tech.*, 30, pp. 275-284.
- Koza J.R., Genetic Programming, Cambridge MA, MIT Press, 1992.
- Krug, M. and Straube, G., 1986, Degradation of phenolic compounds by the yeast *Candida tropicalis* HP15. II. Some properties of the first two enzymes of the degradation pathway. *J. Basic. microbiol.* 26: 271-281.
- Kuiper, J., Hanstveit, A. O., 1984. Fate and effects of 4-chlorophenol and 2,4-dichlorophenol in marine plankton communities in experimental enclosures. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 8, pp.15-33.
- Kwan, K.K., 1988. Synthetic activated sludge techniques for toxicity assessment of chemicals and environmental samples. *Toxicity Assessment* 3,93-96.
- Lapertot M. E. and Pulgarin C., 2006, Biodegradability assessment of several priority hazardous substances: choice, application and relevance regarding toxicity and bacterial activity, *Chemosphere*, 65, pp 682-690.
- Larson R.J., Schaeffer S.L., 1982, A rapid method for determining the toxicity of chemicals to activated sludge, *Wat. Res.*, 16, pp 675-680

- Lenke, H., Pieper, D.H., Bruhn, C., Knackmuss, H-J., 1992. Degradation of 2,4-dinitrophenol by two *Rhodococcus erythropolis* strain. HL 24-1 and HL 24-2. *Applied and Environmental Microbiology* 58, 2928-2932.
- Léonard, D. and Lindley, N. D. (1998). Carbon and energy flux constraints in continuous cultures of *Alcaligenes eutrophus* grown on phenol. *Microbio.* 144: 241-248.
- Léonard, D., Ben Youssef, C., Destruhaut, C., Lindley, N. D. and Queinnec, I. (1999). Phenol degradation by *Ralstonia eutropha*: Colorimetric determination of 2-hydroxymuconate semialdehyde accumulation to control feed strategy in fed-batch fermentations. *Biotechnol. Bioeng.* 65: 407- 415.
- Levenspiel ,O., 1980. The Monod equation: a revisit and a generalization to product inhibition situations. *Biotechnol. Bioeng.* 22, p. 1671.
- Lewis, D. L., H. P. Kollig, R. E. Hodson. 1986. Nutrient limitation and adaptation of microbial populations to chemical transformations. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, pp. 598-603.
- Logothetis N., Haigh A., Characterizing and optimizing multi-response processes by the Taguchi method, *Quality and Reliability Engineering International.* 4 (1988) 159-169.
- Löser, C., Ait Oubelli, M., Hertel, T., 1998. Growth kinetics of the 4-nitrophenol degrading strain *Pseudomonas putida PNP1*. *Acta Biothechnologica* 18, 29-41.
- Low, E.W. and Chase, H. A., 1998. The use of chemical uncouplers for reducing biomass production during biodegradation. *Water Science and Technology* 37(4-5), 399-402.
- Luong, J.H.T., 1987. Generalization of Monod kinetics for analysis of growth data with substrate inhibition. *Biotechnol. Bioeng.* 29, p. 242.
- Mansouri, SA, Hendizadeh, SH, Salmassi, N., Bicriteria, 2007, Two-machine flowshop scheduling using metaheuristics. In: *GECCO'07*, London, UK; CD-ROM, ISBN 978-59593-697.
- Marais, G.V.R. and Ekama, G.A., 1976. The activated sludge process-part I: steady state behaviour. *Water S. A.* 2(4), 163-200.
- Mc Feters G.A., Bond P., Olson S., Tchan Y.T. (1983), A comparison of microbial bioassay for the detection of aquatic toxicant, 1983, *Wat. Res.*, 17, pp 1757-1762.
- Mellit, A., Kalogirou, S.A., Hontoria, L., Shaari, S., 2009, Artificial intelligence techniques for sizing photovoltaic systems: A review *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 13 (2), pp. 406-419
- Meriç, S., Tünay, O., 1998, Modelling approaches in substrate inhibition, *Fresenius Environ. Bull.*, 7, 183-189.
- Meriç, S., Tünay, O., San, H., 2002. A new approach to modelling substrate inhibition. *Environmental Technology* 23, 163-177.

- Michalewicz, Z. and Schoenauer, M., Evolutionary Algorithms for Constrained Parameter Optimization Problems, *Evolutionary Computation*, Vol.4, No.1, 1996, pp.1-32.
- Mörsen, A. and Rehm, H. J., 1990, Degradation of phenol by a defined mixed culture immobilized by adsorption on activated carbon and sintered glass. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 33: 206-212.
- Mozo, I., Lesage, G., Yin, J., Bessiere, Y., Barna, L., Sperandio M., Dynamic modeling of biodegradation and volatilization of hazardous aromatic substances in aerobic bioreactor, *Water Research*, 46(16), 2012, pp.5327-5342
- Mulchandani, A., Luong, J.H.T ,1989 Microbial inhibition kinetics revised, *Enzyme microbial. Technol.*, 11, 66-73.
- Müller, C. (1994). Entwicklung einer Regelungsstrategie zur Erfassung von instabilen stationären Zuständen bei substratinhibierten Systemen am Beispiel des Phenolabbaus durch *Pseudomonas cepacia* G4. Diplomarbeit, TU. Braunschweig.
- Wang, F.S, Sheu, J.W, Multiobjective parameter estimation problems of fermentation processes using a high ethanol tolerance yeast, 2000, *Chemical Engineering Science*, 55(18), pp. 3685-3695
- Neujahr, H. Y. and Gaal, A., 1973, Phenol hydrolase from yeast. Purification and properties of the enzyme from *Trichosporon cutaneum*. *Eur. J. Biochem.* 35: 386-400.
- Neujahr, H. Y., Lindsjö, S. and Varga, J. M., 1974, Oxidation of phenol by cells and cell-free enzymes from *Candida tropicalis*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 40: 209-216.
- Ni, B.J. and Yu, H.Q., 2008. Simulation of heterotrophic storage and growth processes in activated sludge under aerobic conditions. *Chemical Engineering* 140(1-3), 101-109.
- Nies, D.H., 1992. Resistance to cadmium, cobalt, zinc, and nickel in microbes, *Plasmid*, 27(1), pp. 17-28.
- Nopens, I., Batstone, D., Copp, J.B., Jeppsson, U., Volcke, E.I.P., Alex, J., Vanrolleghem, P.A., 2009, "A practical ASM/ADM model interface for enhanced dynamic plant-wide simulation". *Water Research*, vol. 43, no. 7, pp. 1913-1923.
- OCDE L 133/118-1988. Activated sludge, respiration inhibition test, 1988.
- OECD Method 209, 1984. Activated sludge. respiration inhibition test. OECD Guidelines for testing of chemicals OECD. pp. 1-10.
- Osyczka A., 1984, *Multicriterion Optimization in Engineering - with FORTRAN Programs*, Ellis Horwood, Chichester.
- Ouattara, A., Pibouleau, L., Azzaro-Pantel, C. , Domenech, S., 2013, Economic and environmental impacts of the energy source for the utility production system in the HDA process, *Energy Conversion and Management*, 74, pp 129-139

- Paller, G., Hommel, R. K. and Kleber, H-P., 1995. Phenol degradation by *Acinetobacter calcoaceticus* NCIB 8250. *J. Basic. Microbiol.* 35: 325-335.
- Pareto V., *Cours d'économie politique*. Rouge, Lausanne, 1896.
- Patterson, J.W., Brezonik P.L., Putnam, H.D., 1970, Measurement and significance of adenosine triphosphate in activated sludge, *Environ Sci Technol*, (4) 569-575.
- Pavlostathis, S.G, and Giraldo-Gomez, E., 1991. Kinetics of anaerobic treatment, *Water Sci. Technol.* 24, pp. 35-59.
- Pawlowsky, U. and Howell, J. A., 1973, Mixed culture biooxidation of phenol. I.. Determination of kinetic parameters. *Biotechnol. Bioeng.* 15: 889-896.
- Pelmont, J., 2005. *Biodégradations et métabolismes: Les bactéries pour les technologies de l'environnement*, EDP Sciences Editions, pp. 388-389.
- Perrin, E., Mandrille, A., Oumoun, M., Fonteix, C. and Marc, I., 1997. Optimisation globale par stratégie d'évolution: technique utilisant la génétique des individus diploïdes. *Recherche Opérationnelle* 31, 161-201
- Pitter, P., Chudoba, J., 1990, *Biodegradability of Organic Substances in the Aquatic Environment*, CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 306.
- Pons, M.-N., Spanjers, H. and Jeppsson, U., 1999. Towards a benchmark for evaluating control strategies in wastewater treatment plants by simulation. *Computers and Chemical Engineering Supplement*, 23S, S403-S406, 1999.
- Ray, P., Oubelli Ait, M., Loser, C., 1999. Aerobic 4-nitrophenol degradation by microorganisms fixed in a continuously working aerated solid-bed reactor. *Applied Microbiology and Biotechnology* 51, 284-290.
- Rechenberg, I., 1973, *Evolutions strategie: Optimierung Technischer Systeme nach Prinzipien der Biologischen Evolution*. Frommann-Holzboog, Stuttgart.
- Ren, Sh., 2004, Assessing wastewater toxicity to activated sludge: recent research and developments, *Environment International*, 30, pp. 1151- 1164.
- Reynolds, L., Blok, J., Demorsier, A., Gerike, P., Wellens, H., Bontinck, W.J., 1987. Evaluation of the toxicity of substances to be assessed for biodegradability. *Chemosphere* 16, 2259-2263.
- Rezouga F., 2002, *Evaluation par respirométrie du caractère inhibiteur d'un effluent industriel. Aide à la gestion et à la fiabilisation des stations d'épuration biologique*, DEA INSA Toulouse.
- Rezouga, F., Hamdi, M., Spérandio, M., 2011, Multi-criteria optimisation of WWTP design considering hazardous substance removal, 8th IWA Symposium on Systems Analysis and Integrated Assessment. WATERMATEX 2011, 19-22 June, 2011, San Sebastian, SPAIN.

- Rezouga, F., Hamdi, M., Spérandio, M., 2009. Variability of kinetic parameters due to biomass acclimation: Case of para-nitrophenol biodegradation. *Bioresour. Technol.*, 100(21), 5021-5029.
- Ricco, G., Tomei, M. C., Ramadori, R., Laera, G., 2004. Toxicity assessment of common xenobiotic compounds on municipal activated sludge: comparison between respirometry and Microtox®. *Water Research* 38, 2103-2110.
- Rizzuti, L., Augugliaro, V., Torregrossa, V. and Savarino, A., 1979, Kinetics of phenol removal by *Nocardia* species. *Europ. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 8: 113-118.
- Roš M., *Respirometry of activated sludge 1993*, Technomic Publishing Co., Inc., Lancaster, PA, pp. 15-16
- Roy B., Bouyssou D., 1993, *Aide multicritère à la décision: Méthodes et cas*, Ed. ECONOMICA.
- Roy B., 1985, *Méthodologie multicritère d'aide à la décision*, Editions Economica.
- Roy, D., LeDuy, A., Roy, P.H., 1983, One year survey of ATP and dynamic behaviour of an activated sludge treatment plant, *J Water Pollut Control Fed*, (55), pp. 1348-1354.
- Ryssov-Nielsen H., 1975, Measurement of inhibition of respiration in activated sludge by a modified determination of the TTC-deshydrogenase activity, *Wat. Res.*, 19, pp 1179-1185.
- Sahinkaya E., Dilek F. B., The growth behavior of *Chlorella vulgaris* in the presence of 4-chlorophenol and 2,4-dichlorophenol, 2009, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 72(3), pp 781-786
- Saïda S., Abdelkader G., 1994, Inhibition de l'activité des boues actives en présence de chrome (III), *Env. Tech.*, 15, pp 255-262
- Sakurai, A., Masuda, M., Sakakibara, M., 2003. Effect of surfactants on phenol removal by the method of polymerization and precipitation catalysed by *Coprinus cinereus* peroxidase. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 78 (9), 952-958.
- Salton M.R.J., 1968, Lytic agents, cell permeability and monolayer penetrability, *J. Gen. Physiol.*, 52, pp 227-252.
- Santiago I., Grady L., 1990, Simulation studies of the transient response of activated sludge systems to biodegradable inhibitory shock loads, 44th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings, Lewis, Michigan, USA, pp. 191-198.
- Schmidt, E., M. Hellwig, H.-J. Knackmuss. 1983. Degradation of chlorophenols by a defined mixed microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.* 46, pp.1038-1044.
- Schönerklee, M., Peev, M., 2009 Parameter estimation in biokinetic degradation models in wastewater treatment-a novel approach relevant for micropollutant removal. *Water Air Soil Pollut*, 196, 89-99.

- Schröder, M., Müller, C., Posten, C., Deckwer, W. -D. And Hecht, V., 1997, Inhibition kinetics of phenol degradation from unstable steady-state data. *Biotechnol. Bioeng.* 54: 567-576.
- Semple, K.T. and Cain, R.B., 1996. Biodegradation of phenols by the alga *Ochromonas danica*, *Appl. Environ. Microbiol.* 62, pp. 1265-1273.
- Semple, K.T., Cain, R.B., Schmidt, S., 1999. Biodegradation of aromatic compounds by microalgae, *FEMS Microbiol. Lett.* 170, pp. 291-300.
- Simpson, J.R. and Evans, W.C., 1953. The metabolism of nitrophenols by certain bacteria. *Biochemical Journal* 55, XXIV.
- Sokol, W., 1987. Oxidation of an inhibitory substrate by washed cells. *Biotechnology and Bioengineering* 30, 921-927.
- Solomon, B. O., Posten, C., Harder, M. P. F., Hecht, V. and Deckwer, W.-D. 1994. Energetics of *Pseudomonas cepacia* G4 growth in a chemostat with phenol limitation. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 60: 275-282.
- Spain, J. C., P. H. Pritchard, A. W. Bourquin. 1980. Effects of adaptation on biodegradation rates in sediment/water cores from estuarine and freshwater environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 40, pp.726-734.
- Spanjers H., Vanrolleghem P.A., Nguyen K., Vanhooren H. and Patry G.G., 1998. Towards a simulation-benchmark for evaluating respirometry-based control strategies. *Wat. Sci. Tech.*, 37(12), 219-226.
- Spåning, Å. and Neujahr, H. Y. (1987). Growth and enzyme synthesis during continuous culture of *Trichosporon cutaneum* on phenol. *Biotechnol. Bioeng.* 29: 464-468.
- Spérandio, M., and Paul, E., 2000. Estimation of wastewater biodegradable COD fractions by combining respirometric experiments in various S_0/X_0 ratios. *Water Research* 34(4), 1233-1246.
- Stanley, P., 1982, Rapid measurements of bacteria by ATP assay. *Laboratory Equipment Digest* February Edition.
- Steffens, M.A., Fraga, E.S., Bogle, I.D.L., 1999, Multicriteria process synthesis for generating sustainable and economic bioprocesses, *Computers & Chemical Engineering*, 23 (10), pp.1455-1467
- Stephenson, T., J. N. Lester, R. Perry. 1984. Acclimatisation to nitrilotriacetic acid in the activated sludge process. *Chemosphere* 13, pp.1033-1040.
- Steuer R. E. and Choo R.-U., 1983, An interactive weighted Tchebycheff procedure for multiple objective programming, *Mathematical Programming*, vol. 26, pp.326-344.
- Steuer R., *Multiple criteria optimization: theory, computation and application*, John Wiley & Sons, Inc,

- New York, 1986.
- Straube, G. 1987. Phenol hydroxylase from *Rhodococcus* sp. P1. *J. Basic Microbiol.* 27: 229-232.
- Takács, I. 2008, Experiments in Activated Sludge Modelling. PhD Thesis, Ghent University, Belgium, pp 267
- Takács, I., Patry, G.G., Nolasco, D., 1991, A dynamic model of the clarification- thickening process. *Water Research*, 25(10), 1263-1271.
- Talbi E-G., 1999. Méta-heuristiques pour l'optimisation combinatoire multi-objectif: état de l'art, Rapport Technique CNET, Université de Lille, octobre 1999.
- Tanyolaç, D., Salih, B., Tanyolaç, A., 2001. Inhibition kinetics of a commercial mixed culture by ammonium sulfate, *Biochemical Engineering Journal*, 7, 177-182.
- Tessier, G., 1942. Croissance des populations bactériennes et quantité d'aliment disponible. *Rev. Sci. Paris* 80, p. 209.
- Tomei, M.C., Annesini, M.C., 2005. 4-Nitrophenol Biodegradation in a Sequencing Batch Reactor Operating with Aerobic-Anoxic Cycles. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5059-5065.
- Tomei, M.C., Annesini, M.C., Bussolletti, S., 2004. 4-nitrophenol biodegradation in a sequencing batch reactor: kinetic study and effect of filling time. *Water Research* 38, 375-384.
- Tomei, M.C., Annesini, M.C., Luberti, R., Cento, G. Senia A., 2003. Kinetics of 4-nitrophenol biodegradation in a sequencing batch reactor. *Water Research*, 37 (16), 3803-3814.
- Tomei, M.C., Rossetti, S., Annesini, M.C., 2006. Microbial and kinetic characterization of pure and mixed cultures aerobically degrading 4-nitrophenol. *Chemosphere*, 63(10) 1801-1808.
- Torstensson, N. T. L., J. Stark, B. Goransson. 1975. The effect of repeated applications of 2,4-D and MCPA on their breakdown in soil. *Weed Res.* 15, pp.159-164.
- Tsioulpas, A., Dimou, D., Iconomou D., Aggelis, G., 2002. Phenolic removal in olive oil mill wastewater by strains of *Pleurotus* sp. in respect to their phenol oxidase (laccase) activity.
- Turinsky, P.M., Keller, H.S., Abdel-Khalik, M., 2005, Evolution of nuclear fuel management and reactor operational aid tools, *Nucl Eng Technol*, 37, pp. 79–90
- Valat, C., 2002, Développement d'outils biologiques pour le diagnostic environnemental, thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne-Université Jean Monnet de Saint-Etienne, France.
- Van Veldhuizen D., 2000, Multiobjective Evolutionary Algorithms: Analyzing the State-of-the-Art, *Evolutionary Computation*, Summer 8, 2, pages 125-147.
- Vanrolleghem, P.A. and Gillot, S., 2002. Robustness and economic measures as control benchmark performance criteria. *Water Science & Technology*

- Vanrolleghem, P.A., Coen, F., Petersen, B., De Clercq, B. and Ottoy, J.-P., 1998. Limitations of short-term experiments designed for identification of activated sludge biodegradation models by fast dynamic phenomena. Proceedings 7th IFAC Conference on Computer Applications in Biotechnology CAB7. Osaka, Japan, May 31-June 4 1998, 567-572.
- Vanrolleghem, P.A., Jeppsson, U., Carstensen, J., Carlsson, B. and Olsson, G. 1996. Integration of WWT plant design and operation - A systematic approach using cost functions. *Wat. Sci. Tech.*, 34(3-4), 159-171.
- Vashon, R. D., W. J. Jones, A. G. Payne. 1982. The effect of water hardness on nitrilotriacetate removal and microbial acclimation in activated sludge. *Water Res.* 16, pp.1429-1432.
- Van Veldhuizen, D., Lamont, G., 2000, Multi-objective evolutionary algorithms: analyzing the state-of-the-art, *Evol Comput*, 8, pp. 125-147
- Ventullo, R. M., R. J. Larson. 1986. Adaptation of aquatic microbial communities to quaternary ammonium compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* 51, pp.356-361.
- Volskay V., Grady C., *Respiration Inhibition Kinetic Analysis*, 1990, *Wat. Res.*, 24, pp. 863-874.
- Volskay, V.T.Jr. and Grady, C.P.L.Jr., 1988. Toxicity of selected RCRA compounds to activated sludge microorganisms. *Journal Water Pollution Control Federation* 60, 1850-1856.
- Walker, R. L., A. S. Newman. 1956. Microbial decomposition of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Appl. Microbiol.* 4, pp.201-206.
- Wei, Y., Van Houten, R.T., Borger, A.R., Eikelboom, D.H., Fan, Y., 2003. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment. *Water Research* 37, 4453-4467.
- Wiggings, B.A., Jones, S.H., Alexander, M.A., 1987. Explanations for the acclimation period preceding the mineralization of organic chemicals in aquatic environments, *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (4), pp.791-796.
- Xing, X.H., Inoue, T., Tanji, Y., Unno, H., 1999. Enhanced microbial adaptation to p-Nitrophenol using activated sludge retained in porous carrier particles and simultaneous removal of nitrite released from degradation of p-Nitrophenol. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87(3), 372-377.
- Yang, R. D. and Humphrey, A. E. (1975). Dynamic and steady state studies of phenol biodegradation in pure and mixed cultures. *Biotechnol. Bioeng.* 17: 1211-1235.
- Yano, T., Koga, S., 1969. Dynamic behavior of the chemostat subject to substrate inhibition, *Biotechnology and Bioengineering*, 11, pp. 139-153.
- Yoshioka Y., Nagase H., Ose Y., Sato T., Evaluation of the test method "Activated sludge respiration inhibition test" proposed by the OECD, 1986, *Ecotox. and Env. Safety*, 12, pp 206-212.
- Zaraté P. (2005). Des Systèmes Interactifs d'Aide à la Décision Aux Systèmes Coopératifs d'Aide à la

Décision: Contributions conceptuelles et fonctionnelles. Thèse d'Habilitation à Diriger les Recherches Institut National Polytechnique de Toulouse (INPT), France 2005.

Annexes

Annexes du Chapitre I

Annexe 1 : Les tests d'inhibition

1.1.1. Exemples de tests spécifiques

1.1.1.1. Test Microtox®

Ce test largement utilisé en laboratoire est commercialisé. Les micro-organismes indicateurs sont des bactéries marines luminescentes (*Photobacterium phosphoreum* ou *Vibrio fischeri*). L'activité photoluminescente de ces bactéries est diminuée lors d'un dérèglement métabolique. Cette propriété est exploitée afin de quantifier l'effet inhibiteur de composés divers en termes d'IC₅₀. Les bactéries sont mises en suspension dans un milieu de culture et soumises à différentes concentrations en composé. Le temps de contact est compris entre 5 et 15 minutes. La sensibilité du test est généralement très bonne. Des études comparatives ont été effectuées avec d'autres types de tests d'inhibition (Dutka et al., 1983 ; Mc Fetters 1983, Blum et al., 1990 ; Gutiérrez et al., 2002 ; Ricco et al., 2004).

1.1.1.2. Test Daphnie

Les micro-organismes indicateurs sont des micro-crustacés (*Daphnia magna*). L'inhibition est estimée en comptant le nombre de micro-organismes immobiles après 24 heures de contact avec le composé à tester. Ce test est normalisé (NF T90 301) et est couramment utilisé dans les laboratoires départementaux de l'eau. Comme pour le test Microtox®, les micro-organismes mis en jeu sont peu spécifiques de ceux rencontrés sur site.

1.1.2. Exemples de tests non-spécifiques

Ces tests semblent à priori plus appropriés aux problématiques rencontrées par les gérants de stations d'épuration, puisqu'ils mettent en jeu les micro-organismes des unités de traitement susceptibles de recevoir les composés inhibiteurs

1.1.2.1. Test de l'inhibition de l'activité déshydrogénasique : TTC test

La déshydrogénase est une enzyme respiratoire permettant d'assurer l'oxydation du substrat. L'activité déshydrogénasique est quantifiée par dosage colorimétrique du

triphénylformazan issu de la réduction du triphényltetrazolium (TTC). Le TTC remplace l'accepteur d'électron du milieu habituellement utilisé par les micro-organismes. Le temps de contact micro-organismes/composé est d'une heure. Ce test a été adapté à la détermination de l'inhibition de la respiration des micro-organismes de boues activées par Ryssov-Nielsen (1975).

1.1.2.2. Test de l'Adénosine TriPhosphate (ATP) luminescence

L'ATP étant l'acteur principal de l'activité cellulaire, il est présent chez toutes les cellules vivantes et est rapidement détruit suite à la mort des micro-organismes (Dalzell et Christophi, 2002). La concentration en ATP dans le protoplasme des cellules de tous les micro-organismes est relativement uniforme (Patterson *et al.*, 1970). Cependant, cette quantité dépend de l'espèce des micro-organismes et de leur état physiologique, par conséquent elle est reliée à la biomasse viable et à l'activité métabolique (Roy *et al.*, 1983). Ainsi, sa mesure peut être considérée comme un paramètre d'évaluation de la fraction viable biomasse des boues activées.

En effet, l'ATP est hydrolysé pour fournir l'énergie nécessaire aux différentes fonctions vitales cellulaires. L'anabolisme et le catabolisme sont des mécanismes contrôlés par le métabolisme de l'ATP pour assurer le flux d'énergie nécessaire aux micro-organismes, (Low et Chase, 1999). Normalement, les cellules activées génèrent de l'énergie lors de la dégradation de substrat mais gardent un taux d'ATP intracellulaire constant afin de maintenir l'homéostasie³.

Lorsque le métabolisme est « découplé », il a été observé des variations du taux d'ATP. Elles reflètent par exemple, la présence de composés inhibiteurs, l'excès d'énergie, des températures défavorables, un milieu oligotrophe, ou bien encore les périodes d'acclimatation des organismes aux variations environnementales (Low et Chase, 1999).

Ce type de test est donc basé sur le changement de la teneur en ATP d'un inoculum donné en présence de substances toxiques (Dalzell et Christophi, 2002). La méthode de détection de l'ATP est basée sur la réaction de bioluminescence du système enzymatique luciférine luciférase. La luciférase dérivée de la luciole catalyse la réaction entre la luciférine (substrat), l'ATP (cofacteur) et l'oxygène ce qui entraîne une émission de lumière (Stanley,

³ La capacité de l'organisme de maintenir un état de stabilité relative des différentes composantes et des paramètres physiologiques de son milieu interne et ce, malgré les variations constantes de l'environnement externe (ce qui permet le bon fonctionnement des cellules de l'organisme).

1982). L'oxydation d'une molécule de luciférine met en jeu une molécule d'ATP et libère un photon (réaction stoechiométrique) (Patterson et *al.*, 1970).

1.1.2.3. Test d'inhibition de la croissance (Alsop et *al.*, 1980)

Les micro-organismes mis en jeu peuvent être issus de boues activées, de cultures pures, ou du sol.... Le principe du test est de mesurer l'intensité de la croissance microbienne par mesure optique, pour différentes mesures de concentrations en composés. Les micro-organismes se développent dans un milieu de culture à base d'acétate, de protéines et d'eau résiduaire urbaine décantée et filtrée. Le temps d'incubation est de 16 heures.

1.1.2.4. Test d'inhibition de la métabolisation du substrat

Ce test est le plus couramment utilisé et fait l'objet de nombreuses adaptations. Larson et *al.*, (1982), proposent de mesurer l'évolution de la concentration en Glucose par marquage radioactif. Saïda et *al.*, (1994), ont par exemple quantifié l'inhibition du Chrome III sur la vitesse initiale de dégradation du substrat. Ce dernier test est assez long à mettre en œuvre.

Annexes du Chapitre I

Annexe 2 :

Les tests de biodégradabilité

Tableau IV.5 : Caractérisation des différents tests de biodégradabilité immédiate

Méthode	Principe	Conditions restrictives	Conditions expérimentales	Appareillage particulier
Disparition du COD (301A)	<ul style="list-style-type: none"> - Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du carbone organique dissous - (disparition du COD) 	<ul style="list-style-type: none"> - Substance avec Saq ≥ 100 mg.l⁻¹, - Substances non volatiles, - Teneur en carbone organique = ? 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu liquide aqueux, - [Substance] de 10 à 40 mg.l⁻¹ de COD, - 22 \pm 2°C et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Suivi de [COD], - Inoculum : Boues de STEP, Effluents de STEP, Eaux de surface, eaux de sols. 	<ul style="list-style-type: none"> - 8 flacons coniques, - Analyseur de COD, - Analyseur de O₂ dissous, - Centrifugeuse.
Dégagement de CO₂ (301B)	<ul style="list-style-type: none"> - Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du dioxyde de carbone (test de STURM Modifié). - Aération par passage d'air exempt de CO₂, - Piégeage du CO₂ dans une base. Dosage du carbonate par titration chimique ou analyseur de carbone inorganique, - En option ; analyse du COD dans le milieu de croissance. 	<ul style="list-style-type: none"> - Substances chimiques non volatiles, - Teneur en carbone organique à connaître de préférence pour déterminer le CO₂th, - Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance. 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu liquide aqueux, - Aération de 30 à 100 mL.min⁻¹, - [Substance] de 10 à 20 mg.l⁻¹ de COD ou de COT, - 22 \pm 2°C et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Suivi du CO₂ produit, - Inoculum : Boues de STEP, Effluents de STEP, Eaux de surface, eaux de sols. Inoculum - de préférence peu concentré. 	<ul style="list-style-type: none"> - Flacons de 2 à 5 l, munis chacun d'un tube d'aération atteignant presque le fond du récipient et d'un orifice pour l'évacuation des gaz (le tube ne doit pas gêner l'agitateur magnétique, si on en utilise un), - Analyseur de CO₂ ou dispositif de titration (avec HCl 0,05M, dosage de l'excès d'hydroxyde baryum à 0,0125M, et phénolphtaléine comme indicateur coloré).

MITI (I)(301C)	<ul style="list-style-type: none"> - Suivi de la biodégradation du substrat par évaluation de la consommation d'oxygène. - Nécessité d'utiliser un appareil de mesure automatique de DBO par électrolyse ou respiromètre, - Piégeage du CO₂ émis par de l'hydroxyde de baryum ou de sodium, - Consommation d' O₂ évaluée à partir l'oxygène produit par électrolyse pour maintenir la concentration en O₂. 	<ul style="list-style-type: none"> - Substances non volatiles, - Teneur en carbone organique = ? 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu liquide aqueux, - [Substance] de 100 mg.l⁻¹, - 25 ± 1°C et à l'obscurité, - Durée : 28 jours - Inoculum : Effluent secondaire de STEP, clair de préférence 	<ul style="list-style-type: none"> - Respiromètre Oxymax ou Sapromat, - 6 flacons de 300 ml, munis chacun d'une coupelle contenant l'absorbant en CO₂.
Flacon fermé (301D)	<ul style="list-style-type: none"> - Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse de l'oxygène dissous dans la solution. - (demande biochimique en oxygène – essais en fiole fermée) - Concentration faible, - Ensemencement faible. 	<ul style="list-style-type: none"> - Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance. 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu liquide aqueux, - Flacons hermétiques, - [Substance] de 2 à 5 mg.l⁻¹, - Température constante à ± 1°C (20°C conseillée), - Obscurité, - Durée : 28 jours, - Aération préalable du milieu pendant 20 min, - Suivi de O₂ consommé, - Inoculum : effluent secondaire de STEP, concentration faible en micro-organismes. 	<ul style="list-style-type: none"> - 30 flacons de DBO, munis de bouchons de verre, et d'un volume de 250-300 ou 100-125 ml, - Analyse de O₂, par la méthode de Winckler, - Ou analyse de O₂, par électrode à O₂ couplée avec un appareil de mesure.
Essai de «screening» modifié de l'OCDE (301E)	<ul style="list-style-type: none"> - Suivi de la biodégradation du substrat par l'analyse du carbone organique dissous (disparition du COD) - Proche de la méthode COD (301A) mais utilisation d'un 	<ul style="list-style-type: none"> - Substance avec Saq ≥ 100 mg.l⁻¹, - Substances non volatiles, - Formule de la substance pour la détermination de la DthO, 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu liquide aqueux, - [Substance] de 10 à 40 mg.l⁻¹ de COD, - 22 ± 2°C et à l'obscurité, - Durée : 28 jours 	<ul style="list-style-type: none"> - 8 flacons coniques, - Analyseur de COD, - Analyseur de O₂ dissous, - Centrifugeuse.

	inoculum avec une faible concentration en micro-organismes.	- Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance.	- Suivi de [COD], - Inoculum : Effluent secondaire de STEP.	
Respirométrie manométrique (301F)	- Suivi de la biodégradation du substrat par la consommation en oxygène dans un respiromètre fermé. (détermination de la demande en oxygène)	- Formule de la substance pour la détermination de la DthO, - Sinon, nécessité de déterminer la DCO de la substance.	- Milieu liquide aqueux, - [Substance] de l'ordre de 100 mg.l ⁻¹ soit DthO comprise entre 50 et 100 mg.l ⁻¹ , - Régulation de température à ± 1°C et obscurité, - Durée : 28 jours - Soit suivi de la consommation de O ₂ (proportionnelle à la production par électrolyse) soit suivi des modifications des volumes ou des pressions dans le flacon, - Analyse facultative de la DCO avant et après incubation, - Inoculum : Boue activée, effluent de STEP etc. - Préconditionnement possible de l'inoculum.	- 8 flacons coniques, - Respiromètre automatique approprié (Oxymètre® ou Sapromat®) ou appareil de mesure des pressions ou des volumes (ou des deux à la fois).

Tableau IV.6 : Caractérisation des différents tests de biodégradabilité intrinsèque ou inhérente

Méthode	Principe	Conditions restrictives	Conditions expérimentales	Appareillage particulier
302A SCAS modifiée	Suivi de la biodégradation de la substance organique par mesure de COD.	<ul style="list-style-type: none"> - Substance non volatile, - Substance soluble dans l'eau. 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu liquide aqueux (boues activées), - [Substance] de l'ordre de 20 mg.l⁻¹ de carbone pour le composé d'essai au début de chaque cycle d'aération. De préférence, mesurer la COT des solutions. - Régulation de température $\pm 1^\circ\text{C}$ et obscurité, - Durée effective du séjour : 36 heures, - Analyse de la DCO avant et après incubation dans le surnageant, - Inoculum : Boue activée, - Préconditionnement possible de l'inoculum. 	<ul style="list-style-type: none"> - Cellule d'aération SCAS (réacteur de type semi-continu)
302B Zahn-Wellens/EM PA	Suivi de la biodégradation de la substance organique par mesure de COD ou DCO	<ul style="list-style-type: none"> - Substance non volatile, - Substance peu adsorbante, - Substance soluble dans l'eau, - Structure chimique de la substance étudiée ? 	<ul style="list-style-type: none"> - Boue activée en milieu aqueux, - [Substance] comprise entre 50 et 400 mg.l⁻¹ de COD, - Nécessité d'utilisation d'une substance de référence pour évaluer la capacité fonctionnelle de la boue activée. - Température de 20-25°C à l'obscurité, aération, - Aération, - Durée : 28 jours. Il est possible de prolonger l'essai au-delà de 28 jours, - Analyse de la DCO avant et après incubation dans le surnageant, - Préconditionnement possible de la boue. 	<ul style="list-style-type: none"> - Récipients cylindriques en verre d'un volume de 1 à 5 l munis de système d'agitation magnétique et d'un tube de verre de 2 à 4 mm de diamètre intérieur introduisant l'air à environ 1 cm au-dessus du fond du récipient. - Alimentation en air comprimé, - Centrifugeuse, - Appareil d'analyse du COD ou DCO.
302C Essai MITI Modifié (II)	Suivi de la biodégradation de la substance organique par la mesure de la consommation de l'O ₂	<ul style="list-style-type: none"> - Structure chimique de la substance étudiée ? 	<ul style="list-style-type: none"> - Eaux usées urbaines, - Température de 25\pm2°C à l'obscurité, - pH du surnageant de 7,0\pm1,0, - [Substance] de 30 mg.l⁻¹ (masse/volume). - Durée : de 14 à 28 jours - Agitation magnétique, - Préconditionnement possible de la boue. 	<ul style="list-style-type: none"> - Appareillage de BDO-métrie de six flacons de 300 ml, - Eventuellement dosage du COT résiduel après incubation.

Annexes du Chapitre I

Annexe 3 : Inhibition par le produit

Les modèles décrivant une inhibition par une molécule autre que le substrat, telle que le produit par exemple, dérivent généralement des formalismes de l'inhibition enzymatique (0). Ce sont des approximations empiriques puisqu'elles sont appliquées aux systèmes microbiens les plus compliquées. Toutefois, ces modèles ont besoin de la prédiction du comportement des systèmes enzymatiques pour l'élimination, simultanée ou successive, du substrat, et de l'inhibiteur.

L'inhibition par le produit appelée aussi retro-inhibition, a un effet similaire à l'inhibition par le substrat. Il est plutôt difficile de distinguer entre l'inhibition par le substrat ou le produit, car les modèles décrivant les deux phénomènes, paraissent souvent similaires (Rezouga et *al.*, 2002). Par exemple, un modèle proposé par Levenspiel (1980) a été modifié par Han et Levenspiel (1988) pour exprimer l'inhibition par le substrat et par le produit.

Heuvel et Beeftink (1988), Gonçalves et *al.*(1991), ainsi que Meriç et Tünay (2002), ont aussi proposé des modèles qui incluent les deux concentrations en substrat et en produit pour définir l'action inhibitrice du substrat et / ou de produit. Ces approches indiquent que les actions du substrat et du produit sont indissociables. Ceci est vrai essentiellement pour le cas où l'action inhibitrice est exercée à travers des processus métaboliques (Meriç et Tünay, 2002).

Quelques exemples de modèle d'inhibition par le produit sont présentés dans le Tableau IV.7.

Tableau IV.7 : Exemples de modèles simulant l'inhibition par le produit

Modèle	Référence
$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S + \frac{SP}{K_p}}$	Grady et Lim, 1980
$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{Pm}\right)^\beta$	Levenspiel, 1980
$\mu = \mu_{\max} \left[1 - \left(\frac{P}{Pm}\right)^\gamma\right]$	Luong, 1987
$\mu = \mu_m \left[1 - \left(\frac{P}{Pm}\right)^n\right] \left(\frac{S}{S + K_s \left(1 - \frac{P}{Pm}\right)^\alpha}\right)$	Han et Levenspiel, 1988
$\mu = \mu_{mS} \frac{S}{K_s + S + \frac{S^2}{K_i}} \frac{K_p}{K_p + P}$	Heuvel et Beeftink, 1988
$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{S}{S^*}\right)^n \left(1 - \frac{P}{P^*}\right)^m$	Gonçalves et al., 1991
$\mu = \mu_{mS} \frac{S}{K_s + S + k_i} - \mu_{mP} \frac{P}{K_p + P + \frac{S}{k_i}} = \mu_S - \mu_P$	Meriç et Tünay, 2002

Annexes du Chapitre IV

Annexe 1 :

Bilans sur les différentes opérations unitaires

1.1. Bilan sur les bioréacteurs

Le 1^{er} bioréacteur présenté dans la Figure IV.1, est alimenté d'une part d'ERI et d'autre part de boue activée recyclée à partir du fond du décanteur. Après réaction, la liqueur mixte est conduite vers le 2^{ème} bioréacteur. Exception faite pour l'oxygène et sous l'hypothèse H.2, les bilans massiques au niveau du 1^{er} réacteur biologique sont décrits par les équations suivantes.

On définit le taux de dilution $D_{e,1} = \frac{Q_e}{V_{R1}}$

$$\begin{cases} \alpha \cdot D_{e,1} \cdot X_r + \rho_X \cdot X_{R1} - (\alpha + x) \cdot D_{e,1} \cdot X_{R1} = \frac{dX_{R1}}{dt} \\ x \cdot D_{e,1} \cdot S_e + \alpha \cdot D_{e,1} \cdot S_r + \rho_S \cdot S_{R1} - (\alpha + x) \cdot D_{e,1} \cdot S_{R1} = \frac{dS_{R1}}{dt} \end{cases} \quad \text{Système IV.1}$$

De même, sachant que le taux de dilution $D_{e,2}$ est défini par $\frac{Q_e}{V_{R2}}$ les bilans massiques au niveau du 2^{ème} réacteur biologique donnent :

$$\begin{cases} (\alpha + x) \cdot D_{e,2} \cdot X_{R1} + \rho_X \cdot X_{R2} - (\alpha + 1) \cdot D_{e,2} \cdot X_{R2} = \frac{dX_{R2}}{dt} \\ (1 - x) \cdot D_{e,2} \cdot S_e + (\alpha + 1) \cdot D_{e,2} \cdot S_{R1} + \rho_S \cdot S_{R2} - (\alpha + 1) \cdot D_{e,2} \cdot S_{R2} = \frac{dS_{R2}}{dt} \end{cases} \quad \text{Système IV.2}$$

1.2. Bilan sur le décanteur

A la sortie du 2^{ème} réacteur biologique l'eau traitée passe au décanteur, pour en éliminer les matières en suspension. En appliquant le bilan décrit par l'Équation IV.1 pour chacune des deux espèces génériques on obtient le système suivant :

$$\begin{cases} X_D = \frac{\alpha + 1}{\alpha + \left(\frac{Q_e}{Q_p}\right)} \cdot X_{R2} \text{ ou encore } X_D = \frac{\alpha + 1}{\alpha + \left(\frac{D_e}{D_p}\right)} \cdot X_{R2} \\ S_{R2} = S_D \end{cases} \quad \text{Système IV.3}$$

Le bilan matière (Équation IV.1) a été appliqué sur chacune des espèces solubles (S_{O_2} , S_B et S_{Inh}) et particulières (X_{OHO} , X_{IHO} , X_{CB} , $X_{U,E}$) de la liqueur mixte de chacun des deux réacteurs de ce procédé conduit en continu.

Le bilan de l'oxygène doit tenir compte de l'aération qui est modélisée à travers le coefficient de transfert $K_L a$, comme le montre l'Équation IV.22 (pour le réacteur 1) et l'Équation IV.23 (pour le réacteur 2) de variation de la concentration en oxygène.

$$x \cdot Q_e \cdot S_{O_2,e} + \alpha \cdot Q_e \cdot S_{O_2,2} - (\alpha + x) \cdot Q_e \cdot S_{O_2,1} - r_{O_2,1} \cdot V_{R1} + K_L a_1(t) \cdot (S_{O_2,sat} - S_{O_2,1}) \cdot V_{R1} = \frac{dS_{O_2,1}}{dt} \cdot V_{R1} \quad \text{Équation IV.22}$$

Équation IV.23

$$(1 - x) \cdot Q_e \cdot S_{O_2,e} - (\alpha + 1) \cdot Q_e \cdot S_{O_2,2} + (\alpha + x) \cdot Q_e \cdot S_{O_2,1} - r_{O_2,2} \cdot V_{R2} + K_L a_2(t) \cdot (S_{O_2,sat} - S_{O_2,2}) \cdot V_{R2} = \frac{dS_{O_2,2}}{dt} \cdot V_{R2}$$

La concentration en oxygène étant contrôlée dans les réacteurs et sa valeur est maintenue constante, par conséquent, $dS_{O_2}/dt=0$. On déduit alors, de l'Équation IV.22 et l'Équation IV.23, la relation suivante qui va nous permettre de calculer les valeurs instantanées de chacun des $K_L a$, après intégration du modèle :

$$K_L a(t) = \frac{r_{O_2}}{(S_{O_2,sat} - S_{O_2})} \quad \text{Équation IV.24}$$

Le Système IV.4 ainsi que le Système IV.5, décrivant les modèles respectifs de chacun des deux réacteurs, sont obtenus en combinant les relations des Système IV.1 et Système IV.3 (pour le 1^{er} réacteur), ainsi que des Système IV.2 et Système IV.3 (pour le 2^{ème} réacteur) avec celles du modèle cinétique décrit dans le Tableau IV.1. Ainsi les modèles complets décrivant les cinétiques d'évolution de la concentration en substrat facilement biodégradable (S_B), en substrat inhibiteur (S_{Inh}), en biomasse hétérotrophe classique (X_{OHO}), en biomasse hétérotrophe capable de dégrader le *p*-NP (X_{IHO}), en substrat lentement biodégradable (X_{CB}), et en matière particulière non biodégradable issue de la lyse ($X_{U,E}$) sont décrits ci-après.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dS_{B,1}}{dt} = x \cdot D_{e1} \cdot S_{B,e} + \alpha \cdot D_{e1} \cdot S_{B,2} - (\alpha + x) \cdot D_{e1} \cdot S_{B,1} - \frac{1}{Y_{OHO}} \cdot \rho_1 - \frac{1}{Y_{SB,IHO}} \rho_3 + \rho_6 + \rho_7 \\ \frac{dS_{Inh,1}}{dt} = x \cdot D_{e1} \cdot S_{Inh,e} + \alpha \cdot D_{e1} \cdot S_{Inh,2} - (\alpha + x) \cdot D_{e1} \cdot S_{Inh,1} - \frac{1}{Y_{Inh,IHO}} \rho_2 \\ \frac{dX_{OHO,1}}{dt} = D_{e1} \cdot \frac{\alpha + 1}{\alpha + \left(\frac{D_e}{D_p}\right)} \cdot X_{OHO,2} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot X_{OHO,1} + \rho_1 - \rho_4 \\ \frac{dX_{IHO,1}}{dt} = D_{e1} \cdot \frac{\alpha + 1}{\alpha + \left(\frac{D_e}{D_p}\right)} \cdot X_{IHO,2} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot X_{IHO,1} + \rho_2 + \rho_3 - \rho_5 \\ \frac{dXC_{B,1}}{dt} = D_{e1} \cdot \frac{\alpha + 1}{\alpha + \left(\frac{D_e}{D_p}\right)} \cdot XC_{B,2} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot XC_{B,1} + (1 - fx_U) \cdot \rho_4 + (1 - fx_U) \cdot \rho_5 - \rho_6 - \rho_7 \\ \frac{dX_{U,E,1}}{dt} = D_{e1} \cdot \frac{\alpha + 1}{\alpha + \left(\frac{D_e}{D_p}\right)} \cdot X_{U,E,2} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot X_{U,E,1} + fx_U \cdot \rho_4 + fx_U \cdot \rho_5 \end{array} \right.$$

Système IV.4

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dS_{B,2}}{dt} = (1 - x) \cdot D_{e2} \cdot S_{B,e} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot S_{B,2} + (\alpha + x) \cdot D_{e2} \cdot S_{B,1} - \frac{1}{Y_{OHO}} \cdot \rho_1 - \frac{1}{Y_{SB,IHO}} \rho_3 + \rho_6 + \rho_7 \\ \frac{dS_{Inh,2}}{dt} = (1 - x) \cdot D_{e2} \cdot S_{Inh,e} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot S_{Inh,2} + (\alpha + x) \cdot D_{e2} \cdot S_{Inh,1} - \frac{1}{Y_{Inh,IHO}} \rho_2 \\ \frac{dX_{OHO,2}}{dt} = D_{e2} \cdot (\alpha + x) \cdot X_{OHO,1} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot X_{OHO,2} + \rho_1 - \rho_4 \\ \frac{dX_{IHO,2}}{dt} = D_{e2} \cdot (\alpha + x) \cdot X_{IHO,1} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot X_{IHO,2} + \rho_2 + \rho_3 - \rho_5 \\ \frac{dXC_{B,2}}{dt} = D_{e2} \cdot (\alpha + x) \cdot XC_{B,1} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot XC_{B,2} + (1 - fx_U) \cdot \rho_4 + (1 - fx_U) \cdot \rho_5 - \rho_6 - \rho_7 \\ \frac{dX_{U,E,2}}{dt} = D_{e2} \cdot (\alpha + x) \cdot X_{U,E,1} - (\alpha + 1) \cdot D_{e2} \cdot X_{U,E,2} + fx_U \cdot \rho_4 + fx_U \cdot \rho_5 \end{array} \right.$$

Système IV.5

1.3. Détermination du volume du décanteur secondaire

Le taux de recirculation α , qui détermine la concentration en matières en suspension de la boue recyclée, conditionne le volume occupé et le temps de séjour des boues dans le décanteur. Le choix de ce paramètre est déterminant pour la qualité de l'eau traitée. En effet, si le taux de recirculation est insuffisant, le volume des boues stockées est alors trop important, le voile de boue s'approche des déversoirs de collecte et la qualité de l'eau se détériore. Il s'ensuit un risque d'anaérobiose et, dans certain cas, de dénitrification, avec remontée en surface des boues activées d'où des fuites des matières en suspension. D'autre part, s'il est trop important la clarification peut-être perturbée par l'excès d'énergie hydraulique introduite (Degrémont, 1989).

Plus la concentration en matières en suspension est élevée plus le volume du décanteur devra être grand car la décantation est freinée (et inversement). Ceci est dû au fait que lorsque la concentration en boue est trop grande les particules ont tendance à se

repousser les unes les autres et donc ne décantent pas correctement. Il est important de noter que c'est le clarificateur qui limite les potentialités du traitement et non le système biologique qui pourrait accepter des concentrations en matières en suspension largement supérieures. Ainsi, le décanteur est le procédé clé qui doit être le plus performant possible.

Schématiquement, le phénomène de décantation consiste à créer dans le clarificateur des conditions de vitesse telles que le flux d'eau épurée ascendant ne perturbe pas la descente des particules que l'on souhaite concentrer en fond d'ouvrage pour ensuite les soutirer (recirculation, extraction des boues en excès). Au-delà de la limite hydraulique du clarificateur, on observe un engorgement et à terme, un débordement du lit de boue (d'où les pertes de boue). Cette limite hydraulique s'exprime par la vitesse ascensionnelle V_a (ou charge hydraulique superficielle). D'après la documentation technique de la F.N.D.A.E n°16, la vitesse ascensionnelle dépend de décantabilité des boues, en termes d'indice de boue (IB en ml.g^{-1}) et des matières en suspension (MES en g.m^{-3}). On introduit d'abord, un paramètre intermédiaire appelé volume corrigé (V_c en ml.l^{-1}) qui s'exprime comme suit :

$$V_c = IB \cdot MES \cdot 10^{-3} \quad \text{Équation IV.25}$$

Et la vitesse ascensionnelle s'écrit :

$$V_a = 1.2512 e^{-0.0031 V_c} \quad \text{Équation IV.26}$$

Lors du dimensionnement d'un clarificateur, c'est surtout le calcul de la surface utile qui est important. En effet, cette surface est déterminante pour l'efficacité de la décantation. Le calcul de cette surface se fera donc à partir du débit de pointe de la station arrivant en à l'entrée du clarificateur. Elle est donc calculée d'après l'Équation IV.27.

$$A = \frac{Q_e}{24 \cdot V_a} \quad \text{Équation IV.27}$$

Le volume du décanteur sera alors calculé en appliquant la formule suivante :

$$V_{dec} = A \cdot \left(H + \frac{1}{3} h \right) \quad \text{Équation IV.28}$$

L'efficacité d'un décanteur est aussi fonction de sa forme. Les meilleurs résultats sont obtenus par décantation en flux vertical mise en œuvre dans les ouvrages profonds à fond fortement incliné (50° ou plus) mais la construction de tels ouvrages, de diamètre limité, est coûteuse. Les appareils de grandes surfaces présentent ainsi des fonds faiblement inclinés et sont souvent équipés de systèmes de raclage conduisant les boues dans les fosses d'où elles sont reprises pour le recyclage et l'extraction de la fraction en excès.

$$\text{Or } h = \frac{d}{2} \cdot \text{tg}(\theta) = \sqrt{\frac{A}{\pi}} \cdot \text{tg}(\theta) \quad \text{Équation IV.29}$$