

Bepaling van biokinetische karakteristieken

Peter A. Vanrolleghem & Filip Coen

Universiteit Gent

INHOUDSOPGAVE

SAMENVATTING

INLEIDING

IDENTIFICEERBAARHEIDSPROBLEMATIEK

Definitie

Sensitiviteitsanalyse

Maximaliseren van de Informatie-inhoud van de datasets gebruikt voor parameterschatting

Robuuste parameterschatting

Validatie

SLIBSAMENSTELLING

Heterotrofe fraktie X_{BH}

Autotrofe fraktie X_{BA}

Inerte fraktie X_I

Partikulair substraat X_S

STOÏCHIOMETRISCHE PARAMETERS

Heterotrofe opbrengstcoëfficiënt Y_H

Autotrofe opbrengstcoëfficiënt Y_A

Stikstofgehalte van de biomassa i_{XB}

Inerte fraktie van de biomassa-COD f_P

Stikstofgehalte van de inerte biomassa-COD i_{XP}

KINETISCHE PARAMETERS

Heterotrofe afstervingscoëfficiënt b_H

Autotrofe afstervingscoëfficiënt b_A

Heterotrofe max. groeisnelheid μ_H , en affiniteitskonstante K_S

Autotrofe max. groeisnelheid μ_A , en affiniteitskonstante K_{NH}

Hydrolysekonstanten $k_{h,}$ K_X

Parameters in "switching functions" $K_{O,H}$, $K_{O,A}$, K_{NO}

Ammonifikatiesnelheidskonstante k_a

Korrektiefactoren voor anoxische groei en hydrolyse η_g , η_h

EFFEKT VAN TEMPERATUUR EN pH OP BOKINETISCHE PARAMETERS

Effekt van temperatuur

Effekt van pH

NIET-LINEAIRE PARAMETERSCHATTING

Parameterschatting

Algoritmen voor niet-lineaire parameterschatting

Optimaal Experimenteel Ontwerp

KONKLUSIES

LITERATUUR

SAMENVATTING

In deze bijdrage wordt een niet-exhaustief overzicht gegeven van methoden die moeten toelaten enerzijds de kinetische en stoichiometrische parameters in het IAWQ model n°1 te schatten en anderzijds ook de samenstelling vast te stellen van de verschillende frakties in het actief slib dat ter studie voorligt. Daarnaast wordt ook ingegaan op enkele problemen waarmee men geconfronteerd kan worden bij het schatten van parameters in dergelijke niet-lineaire modellen. Enkele technieken die behulpzaam kunnen zijn bij het beperken van de gevolgen ervan komen daarna aan bod.

INLEIDING

Modellering van actief slibprocessen heeft recent een hoge vlucht genomen. Het wiskundig model voorgesteld door de Task Group van de IAWQ (Henze *et al.*, 1987) werd wereldwijd als standaard aanvaard en wordt in tal van toepassingen ingezet. Het biologisch en plaatsspecifiek karakter van waterzuiveringsprocessen leiden er echter toe dat de eigenschappen van het proces telkens opnieuw dienen vastgesteld te worden voor de lokale situatie. Het vinden van de configuratie-, influent- en slibkarakteristieken wordt onder de noemer "modelkalibratie" samengebracht. Afhankelijk van de doelstelling van de modelleeroefening, worden andere eisen gesteld aan de kwaliteit van de noodzakelijke kalibratie zoals omstandig beschreven in de bijdrage van Weijers (deze proceedings). In deze bijdrage wordt de kalibratie van de biokinetische parameters (stoichiometrie en kinetiek) en de inschatting van de verschillende frakties in het actief slib naar voor gebracht. Daarnaast zal ook enige aandacht besteed worden aan de problemen die kunnen optreden bij het schatten van parameters in dergelijke complexe modellen.

Wanneer we het skala technieken overzien die voor modelkalibratie werden ontwikkeld, stellen we vast dat er nog geen duidelijke standaardisatie van de kalibratieprocedures is gebeurd, en dit terwijl heel wat groepen willen gaan simuleren! Als men ook nog de stap wil zetten naar het inmiddels voorgestelde IAWQ model n° 2 dat ook een beschrijving van de biologische fosfaatverwijdering omvat, dan hebben we te maken met een nog complexer model en dus een nog omvangrijker kalibratievraagstuk! Bovendien is nog vrij veel ontwikkelingswerk nodig om te komen tot bruikbare experimentele profopzetten.

We veronderstellen dat de beschrijving van het IAWQ model n°1 in deze tekst overbodig is en we verwijzen graag naar de bijdrage van van Loosdrecht in deze proceedings. De lijst parameters waarvan deze bijdrage een (niet-exhaustief) overzicht van hun schattingsmethoden biedt, staat in Tabel 1.

Tabel 1. Slibsamenstelling en stoichiometrische en kinetische parameters in het IAWQ model n° 1.

SLIBSAMENSTELLING EN STOÏCHIOMETRIE		KINETIEK	
X_{BH}	Heterotrofe fraktie	μ_H	Heterotrofe max. groeisnelheid
X_{BA}	Autotrofe fraktie	K_S	Heterotrofe affiniteitskonstante
X_I	Inerte fraktie	b_H	Heterotrofe afstervingskoëfficiënt
X_S	Traag afbreekbaar onopgelost substraat	μ_A	Autotrofe max. groeisnelheid
Y_H	Heterotrofe opbrengstkoëfficiënt	K_{NH}	Autotrofe affiniteitskonstante
Y_A	Autotrofe opbrengstkoëfficiënt	b_A	Autotrofe afstervingskoëfficiënt
i_{XB}	Stikstofgehalte van de biomassa	k_h	Hydrolyse-snelheidskonstante
f_P	Inerte fraktie van de biomassa-COD	K_X	Hydrolyse-saturatiekonstante
i_{XP}	Stikstofgehalte van de inerte biomassa-COD	$K_{O,H}$	Heterotrofe zuurstof "switching konstante"
		$K_{O,A}$	Autotrofe zuurstof "switching konstante"
		K_{NO}	Heterotrofe nitraat "switching konstante"
		k_a	Ammonifikatiesnelheidskonstante
		η_g	Korrektiefactor voor anoxische groei
		η_h	Korrektiefactoren voor anoxische hydrolyse

IDENTIFICEERBAARHEIDSPROBLEMATIEK

Definities

Het grote aantal parameters, gekoppeld aan het niet-lineair karakter van het IAWQ Model n° 1 leidt tot een inmiddels klassiek geworden voorbeeld van een modelleeroefening die geplaagd wordt door identificeerbaarheidsproblemen (Dochain *et al.*, 1995). Afwezigheid van parameteridentificeerbaarheid betekent dat verschillende combinaties van parameters leiden tot identieke modelvoorspellingen. Er kan dus geen unieke set van parameters gevonden worden die de beste model-fit geeft aan de data.

Dergelijke identificeerbaarheidsproblemen kunnen gedetekteerd, geëvalueerd en beperkt worden met behulp van volgende hulpmiddelen:

- *a priori* sensitiviteitsanalyse met reductie van de te schatten parameterset tot alleen de meest gevoelige weerhouden worden
- optimaal experimenteel ontwerp zodat de data een voldoende grote informatie-inhoud hebben
- Gebruik van robuuste parameterschattingsmethoden
- modelvalidatie

Hierna worden deze vier technieken kort toegelicht.

Sensitiviteitsanalyse

In een sensitiviteitsanalyse wordt de gevoeligheid nagegaan van de voorspellingen gemaakt door het model aan kleine wijzigingen van parameterwaarden. Indien lage sensitiviteiten worden vastgesteld voor een bepaalde parameter, mag men besluiten dat het niet veel zin heeft veel aandacht te besteden aan de nauwkeurigheid van zijn bepaling en kan men volstaan met het gebruik van de default waarde.

De eerste resultaten van dergelijke sensitiviteitsanalyses zijn intussen bekend. De parameters die uit de analyses kwamen kunnen een goede start zijn bij het opzetten van de set te schatten parameters. Er moet echter wel voor gewaarschuwd worden dat de lijsten met belangrijke parameters telkens specifiek zijn voor de bestudeerde installatie en dat een ander resultaat kan gevonden worden voor een andere installatie of een andere procesvoering. Het is nu eenmaal een kenmerk van niet-lineaire modellen als het IAWQ-model dat de sensitiviteit afhankelijk is van de waarde van de toestandsvariabelen én van de modelparameters zelf. Dit maakt de studie er niet eenvoudiger op aangezien geen algemene regels opstelbaar lijken.

Met deze waarschuwing in het achterhoofd kunnen we nu een overzicht geven van de parameters die verschillende onderzoeksgroepen hebben gerapporteerd.

Novak *et al.* (1994) veronderstellen dat men met aanpassing van volgende set parameters tot een vrij goede beschrijving komt van actief slib processen:

- Y_H
- b_H
- Y_A
- b_A

Weijers (personal communication) heeft een systematische gevoeligheidsanalyse gemaakt voor een specifieke installatie. Eerst werd het IAWQ-model gekalibreerd, waarna de sensitiviteit van de modelvoorspellingen van meetbare variabelen aan parameterwaarden systematisch werd onderzocht. Hij kwam tot het volgende lijstje van meest invloed hebbende parameters:

- Y_H
- μ_H
- b_H
- μ_A
- b_A
- η_g

De kalibraties die in detail beschreven werden in de literatuur geven een idee van de parameters waarnaar men teruggrijpt bij het aanpassen van het model aan de meetdata. Dergelijke aanpak is *in se* een empirische sensitiviteitsanalyse en werd door verschillende onderzoekers op verschillende types WZI doorgevoerd. Er kan dus verhoopt worden dat hieruit een bepaalde trend naar voor geschoven kan worden.

Siegrist & Tschui (1992) kalibreerden drie WZI's met het IAWQ model op basis van een meetkampagne op de waterzuivering zelf zonder gebruik van specifiek uitgevoerd batch-experimenten voor parameterschatting. Gedurende twee weken werden dagelijkse komposietmonsters geanalyseerd en gedurende twee dagen werd vervolgens een intensieve meetkampagne gevoerd met metingen om de 2 uur. De parameters die zij dienden aan te passen, waren:

- μ_H
- K_S
- μ_A
- K_{NH}
- k_h
- K_X
- η_g

Pedersen & Sinkjaer (1992) deden een gelijkaardige oefening en baseerden hun kalibratie tevens op een dubbele meetkampagne met drie maand data over de dagelijkse influent en effluentkwaliteit en, daarnaast, drie intensieve meetkampagnes van 6 uur met aandacht voor de gemengde vloeistof. Hun aandacht ging vooral uit naar de goede voorspelling van de stikstofcomponenten en daartoe werden volgende parameters gewijzigd.

- K_S
- μ_A
- η_g

Dupont & Sinkjaer (1994) bouwden verder op deze resultaten en maakten nu gebruik van specifieke experimenten om bepaalde parameters (naast influentkarakteristieken) te schatten. Er werden ook intensieve meetkampagnes uitgevoerd gedurende één week- en één weekenddag met meetintervallen van ongeveer 1 uur voor influent-COD en -stikstoffracties en 1 kwartier voor de gemengde vloeistof en het effluent. De parameters die in deze oefening niet op hun default-waarde werden gelaten, waren:

Stokes *et al.* (1993) gebruikten drie gegevensbronnen voor de kalibratie van het IAWQ model, met name 1) on-line metingen met een interval van 15 min; 2) analyseresultaten van dagelijkse komposietmonsters; 3) specifieke metingen gedaan ten behoeve van de kalibratie-oefening. Voor het bekomen van een goede voorspellingskracht van het model dienden enkel volgende parameters te worden aangepast:

- μ_H
- K_S
- μ_A

Andere onderzoekers lieten jammer genoeg na de lijst van door hen aangepaste parameters mee te geven in hun publikatie zodat hun ervaring verloren gegaan is voor verdere kalibratie-oefeningen.

Met het gevaar een heel gesimplifieerd beeld te geven van de sensitiviteitsproblematiek, hebben we uit deze oefeningen een lijst proberen samen te stellen die enige houvast kan geven bij de zoektocht naar de set te schatten parameters. Een tentatieve volgorde van belangrijkheid wordt eveneens aangegeven:

1. μ_A
2. η_g
3. K_S
4. μ_H
5. Y_H
6. b_H
7. b_A
8. K_{NH}
9. $K_{O,A}$
10. k_h
11. K_X

We willen nogmaals op het gevaar wijzen deze lijst als enige waarheid te beschouwen ! Men moet er immers van bewust zijn dat de in de praktijk uitgevoerde kalibraties voor een deel bepaald zullen zijn door de beschikbare experimentele mogelijkheden. De lijst kan wel gezien worden als een poging de relatieve belangrijkheid van de verschillende parameters van het IAWQ model weer te geven.

Maximaliseren van de Informatie-inhoud van de datasets gebruikt voor parameterschatting

Een belangrijke oorzaak van identificeerbaarheidsproblemen ligt in de beperktheid van de informatie-inhoud van de voor parameterschatting aangewende meetgegevens (Vanrolleghem *et al.*, 1995). Laten we dit als volgt illustreren.

Indien men de routine- en on-line meetgegevens van volschalige installaties nader bekijkt, dan is een duidelijk verschil waar te nemen in hun informatie-inhoud voor verschillende types installaties. In het geval van intermitterend werkende WZI's (bv. alternerende beluchting) kunnen grote variaties in de meest relevante variabelen (zuurstof, nitraat, ammonium, substraat) waargenomen worden (Figuur 1), terwijl continu en in pseudo-steady state opererende processen aanleiding geven tot relatief "vervelende" tijdsprofielen (Figuur 2). Het mag duidelijk zijn dat schatting van biokinetische parameters op basis van de meetgegevens van de eerste soort WZI meer betrouwbaar zullen zijn, terwijl identificeerbaarheidsproblemen te verwachten zijn voor het tweede type datasets, i.e. er bestaat grote kans dat verschillende combinaties van parameters zullen toelaten de data van Figuur 2 te beschrijven (Vanrolleghem & Van Daele, 1994).

De problematiek van informatie-inhoud van een dataset en de invloed ervan op de betrouwbaarheid van de parameterschatting kan systematisch worden onderzocht met behulp van de theorie van optimaal experimenteel proefopzet (Optimal Experimental Design, OED. In zijn algemeenheid gesteld, worden bij OED volgende vragen beantwoord:

- welke variabele(n) moeten gemeten worden ?
- waar moet de meetapparatuur opgesteld ?
- wanneer en hoe frequent dient men te meten ?
- onder welke omstandigheden verzamelt men data (in situ-, lab- of in-sensor-experimenten) ?

zodat de parameterschatting optimaal kan geschieden. Enkele vrij algemene opmerkingen die opgaan voor de kalibratie van waterzuiveringsmodellen kunnen hier reeds naar voor gebracht worden.

Experimentele datasets kunnen afkomstig zijn van routine (inclusief on-line) metingen ter hoogte van de volschalige installatie zelf of van specifieke experimenten die uitgevoerd worden ten behoeve van de parameterschatting. Onder die laatste categorie vallen enerzijds speciaal uitgevoerde proeven in het laboratorium of in pilootinstallaties die daartoe zijn opgezet en, anderzijds, de specifiek op kalibratie gerichte experimenten op de volschalige installatie zelf (bv. intensieve meetcampagnes of opgelegde procesverstoringen). Het moet duidelijk zijn dat de experimenteervrijheid in dit laatste geval beperkt is vanwege de erbij horende kosten en de mogelijk negatieve effecten op de effluent- en slibkwaliteit bijvoorbeeld. Uiteindelijk komt men bij een modelkalibratie tot een optimale mix van datasets afkomstig van deze drie experimenteermogelijkheden. Eén van de problemen is telkens deze optimale combinatie te gaan vaststellen. De doelstelling van de modelleeroefening is hierbij van groot belang.

Figuur 1 Ammonium- en nitraatmetingen in een alternerend belucht actief slibstelsysteem.

Figuur 2 Ammonium-, nitraat- en korte termijn BOD -metingen
in een stikstofverwijderingssysteem met predenitrifikatie.

Wat betreft het type uit te voeren laboratorium- of pilootexperimenten werd heel wat creativiteit aan de dag gelegd, wat ook zal blijken uit het vervolg van deze bijdrage. Veelal wordt teruggerepen naar batch-experimenten waarbij opvalt dat men meestal slechts één of een beperkt aantal parameters simultaan gaat schatten. Ook de belangrijke rol die respirometrische technieken spelen, is opvallend. Specifieke omstandigheden worden in deze experimenten aangelegd met als doel dat de gemeten variabele sterk afhangt van (en dus veel informatie bevat over) één of meerdere parameters die men wil bepalen. Er werden ook pogingen ondernomen om experimenten zo op te zetten dat de informatie-inhoud in een (dan vrij omvangrijke) set gemeten variabelen voldoende groot was om bijna alle parameters te gaan schatten (Larrea *et al.*, 1992). Deze auteurs hebben echter ook moeten vaststellen dat nogal wat problemen ontstonden rond het vinden van een unieke set parameters als gevolg van het (eigenlijk wel te verwachten) praktisch identificeerbaarheidsprobleem. Dit laatste volgt uit de onnauwkeurigheid van de meetgegevens en de complexiteit van het kalibratieprobleem (Vanrolleghem *et al.*, 1995).

Robuuste parameterschatting

Wanneer experimentele data voorhanden zijn, moet nog steeds de stap gezet worden om daaruit de parameter(s) af te leiden. We hebben vastgesteld dat men meestal teruggrijpt naar eenvoudige technieken zoals het semilogaritmisch transformeren van de data waarna lineaire regressie wordt toegepast om bv. de maximale groeisnelheid te bepalen. In andere gevallen gaat de gebruiker manueel parameters wijzigen totdat de afwijkingen tussen modelvoorspellingen en meetgegevens er “redelijk uitziet”. Deze aanpak is echter sterk heuristisch en stelt (efficiëntie-)problemen indien meerdere parameters simultaan geschat moeten worden uit de data. Deze manier van parameterschatten is waarschijnlijk één van de redenen waarom de voorgestelde experimentele procedures teruggrijpen naar batch-experimenten waaruit één of in elk geval slechts een beperkt aantal parameters geschat wordt.

Ondersteuning van het parameterschatten door een numeriek zoekalgoritme maakt het echter mogelijk meer ingewikkelde parameterschattingsproblemen aan te pakken en de efficiëntie van de zoektocht naar de beste parameterset te verhogen. Deze computerondersteunde parameterschatting is echter opnieuw niet zonder gevaren indien de manier van werken van deze algoritmen onvoldoende is begrepen en de resultaten niet door een expert of met behulp van een aantal diagnostische tests worden geëvalueerd (Vanrolleghem & Keesman, 1995). In het laatste deel van deze bijdrage zal daarom enige informatie hieromtrent worden samengevat.

Het is ons gevoel dat men in de komende jaren zal evolueren van de “één experiment voor één parameter”-aanpak naar een meer geavanceerde “één experiment voor een aantal parameters”-protokol waarbij men op zoekalgoritmen zal terugvallen voor het schatten van de parameters. Deze beweging wordt gevoed door de noodzaak de experimenteerinspanningen die men zich nu getroost, te beperken.

Een probleem dat nog onvoldoende aandacht heeft gekregen, maar wel significante effecten kan hebben, spruit voort uit het feit dat men een (moeilijke) keuze moet maken tussen (Wanner *et al.*, 1992):

- sequentiële parameterschatting (i.e. experiment per experiment)
In deze aanpak schat men één of meerdere parameters op basis van een bepaalde dataset en houdt deze parameter(s) vervolgens vast op de bekomen waarde(n) tijdens de schatting van de andere parameters op basis van een “volgende” dataset. Dit leidt echter tot het gevaar dat de volgorde van gebruik van de datasets voor parameterschatting kan leiden tot verschillende resultaten en dat fouten kumulieren naarmate parameters “later” worden geschat. Als voordeel geldt wel dat elke aparte parameterschatting vrij eenvoudig blijft en er bijgevolg minder gevaar bestaat voor praktische identificeerbaarheidsproblemen die het gevolg zijn van numerieke onvolkomenheden of beperkingen van de zoekalgoritmen. Bovendien laat deze aanpak ook “handmatige” parameterschatting toe.
- globale of multirespons parameterschatting
Voor deze methode worden alle datasets gebundeld zodat een multirespons dataset ontstaat waarna er gezocht wordt naar een unieke parameterset die alle experimentele data samen naar wens beschrijft (Johnson & Berthouex, 1975). In deze aanpak stelt zich het probleem dat deze éne identifikatie van een andere grootte-orde is dan elk van voorgaande wat aanleiding kan geven tot numerieke problemen. Aangezien de parameterschatting echter in één keer gebeurt, dient geen effect van de volgorde van parameterschatten gevreesd te worden.

Ook hier denken wij dat een gulden middenweg zal gevonden worden, waarbij de datasets zullen gebundeld worden in een aantal multirespons datasets waarop dan een aantal parameterschattingen zullen gebaseerd zijn.

Validatie

Modelvalidatie bestaat erin modelvoorspellingen te vergelijken met meetdata die niet gebruikt zijn tijdens de modelkalibratie. Op deze manier kunnen modeldeficiënties heel krachtig worden opgespoord (Wanner *et al.*, 1992). Deze techniek is vrij goed ingeburgerd en voorbeelden kunnen gevonden worden bij Pedersen & Sinkjaer (1992), Dupont & Sinkjaer (1994) en Stokes *et al.* (1993). Opmerkelijk bij deze laatste studie was het vermogen van het model om drift in de on-line meetinstrumenten aan te wijzen als diskrepancies tussen modelvoorspellingen en metingen van de procesvariabelen.

SLIBSAMENSTELLING

Verder in de tekst worden enkele parameters die te maken hebben met de chemische samenstelling van het slib doorgenomen daar ze belangrijk zijn voor de stoïchiometrie van de biologische reacties.

Eerst wordt echter aandacht besteed aan de opdeling van het actief slib in zijn verschillende frakties: 1) een inerte fraktie X_I , een traag biodegradeerbare fraktie X_S , een fraktie actieve heterotrofe biomassa X_{BH} en een fraktie autotrofe biomassa X_{BA} . Aangezien de totale COD horende bij de partikulaire fraktie kan gemeten worden, is het slechts nodig drie van de vier frakties te bepalen, waaruit de vierde automatisch volgt uit:

$$X_{tot} = X_I + X_S + X_{BH} + X_{BA}$$

Een vrij eenvoudige, maar wel omslachtige methode om de verschillende frakties te bepalen, bestaat erin een simulatie door te voeren met de beste (geschatte) modelparameters en een gemiddeld influent zodat het slib “zichzelf gaat opdelen” in zijn verschillende frakties. Men laat de simulatie lopen totdat zich een evenwicht heeft ingesteld.

Deze evenwichtoplossing kan ook analytisch benaderd worden met de techniek beschreven in het IAWQ rapport (Henze *et al.*, 1987). Men moet hier echter wel het model lineariseren zodat het via oplossing van een lineair stelsel mogelijk wordt de stationaire toestand te berekenen, meer bepaald de waarde van de verschillende frakties in het slib.

Hieronder worden enkele snellere en rechtstreekse schattingsmethoden voor de verschillende frakties samengevat.

Heterotrofe fraktie X_{BH}

Om de heterotrofe biomassa in een actief slibstelsel te bepalen, valt men terug op een steady state analyse van de massabalans. Men kan aantonen dat de fraktie heterotrofen volgt uit:

$$X_{BH} = Y_H \cdot \frac{\theta_x}{1 + b_H \theta_x} \cdot \frac{COD^{Degraded}}{V}$$

waarin θ_x de slibleeftijd voorstelt, V het volume van het actiefslibstelsel, $COD^{Degraded}$ de totale hoeveelheid verwijderde COD-vracht (een gemiddelde waarde genomen over voldoende lange tijd, bv. 1 slibverblijftijd), b_H de afstervingscoëfficiënt en Y_H de opbrengstcoëfficiënt. Voor de beide laatste parameters worden verder bepalingsmethoden aangegeven.

Lokkegaard Bjerre *et al.* (1995) gebruiken de experimentele methode van Kappeler en Gujer (1992, zie ook Roeleveld in deze proceedings) om de concentratie aan heterotrofen in de gemengde vloeistof te bepalen.

Autotrofe fraktie X_{BA}

Dupont en Sinkjaer (1994) bepalen de fraktie nitrificerende organismen in het actief slib aan de hand van een massabalans (opnieuw over voldoende lange termijn):

$$X_{BA} = Y_A \cdot \frac{f^{Aerob} \theta_x}{1 + b_A \theta_x} \cdot \frac{N^{Nitrified}}{V}$$

waarbij θ_x de slibleeftijd voorstelt; f^{Aerob} de aerobe fraktie van het reaktorvolume; V het volume; $N^{Nitrified}$ de gemiddelde hoeveelheid stikstof die genitrificeerd is; b_A de autotrofe afstervingscoëfficiënt en Y_A de autotrofe opbrengstcoëfficiënt. Voor deze beide laatste parameters worden verder nog bepalingsmethoden voorgesteld.

Inerte fraktie X_I

Voor de bepaling van het gehalte X_I in het actief slib wordt opnieuw uitgegaan van de massabalans. In het geval men de fraktie autotrofen mag verwaarlozen, bekomt men volgende vergelijking voor de fraktie inerte biomassa op totale biomassa:

$$\frac{X_I}{X_{BH} + X_I} = \frac{1}{1 + f_P b_H \theta_x}$$

In deze vergelijking wordt het inert partikulair materiaal in het influent in acht genomen worden bij het bepalen van de totale concentratie inert materiaal in actief slib.

Partikulair substraat X_S

Voor het bepalen van de hoeveelheid partikulair substraat in het slib, kan teruggerepen worden naar de influentkarakterisatiemethoden (Roeleveld in deze proceedings) of kan het algemeen schema worden gebruikt waarbij men lange termijn simulaties gebruikt met het gekalibreerde model.

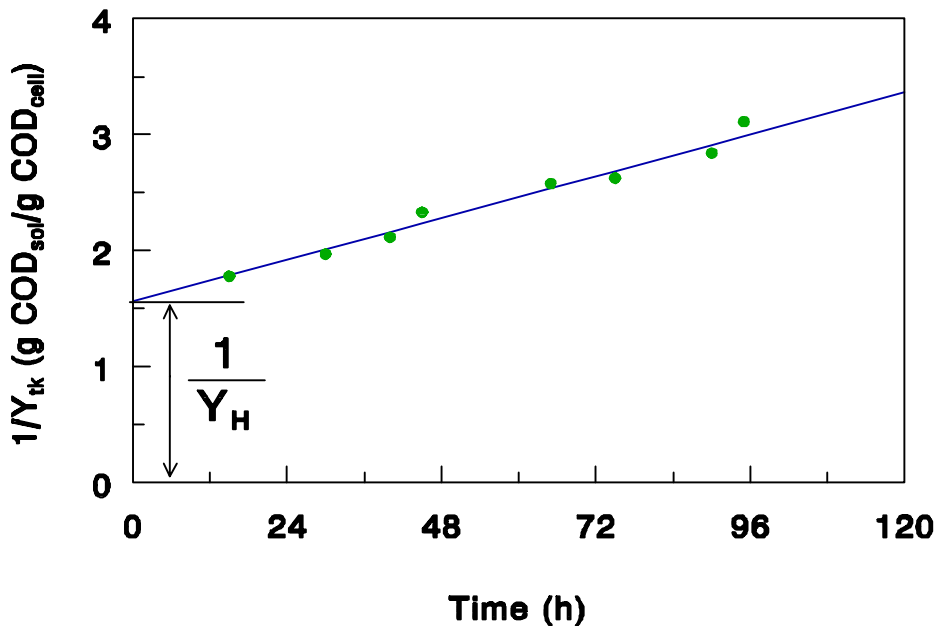
STOÏCHIOMETRISCHE PARAMETERS

Heterotrofe opbrengstcoëfficiënt Y_H

Naast het belang van de heterotrofe opbrengstcoëfficiënt bij het inschatten van slibproductie en zuurstofvraag, komt (zoals zal blijken uit het overzicht der methoden) deze parameter tussen bij de schatting van heel wat andere parameters. Het belang van een goede waarde voor Y_H wordt hiermee onderstreept.

Vrij algemeen wordt aangenomen dat de opbrengstcoëfficiënt één der meest konstante parameters in afvalwaterzuivering is en op ongeveer 0.67 g biomassa-COD per g verwijderde substraat-COD mag geschat worden (Kappeler & Gujer, 1992).

Indien men Y_H toch wil schatten, kan de methode voorgesteld door de IAWQ Task Group aangewend worden. Ze bestaat erin een experiment uit te voeren met een gefilterd afvalwatermonster en een inokulum actief slib uit de installatie. Op een aantal tijdstippen t_k gedurende de inkubatie (tot 150 u, Slade & Dare, 1993) wordt de gevormde partikulaire COD (X_{tk} , = totale COD - opgeloste COD) en de nog over-



Figuur 3 Bepaling van de opbrengstcoëfficiënt Y_H uit een serie waargenomen Y_{tk}

blijvende substraat-COD (S_{tk}) gemeten. De waargenomen opbrengstcoëfficiënt Y_{tk} wordt dan eenvoudig bekomen als de verhouding tussen nieuw gevormde partikulair biomassa-COD en verwijderde opgeloste substraat-COD:

$$Y_{tk} = \frac{X_{tk} - X_{t0}}{S_{t0} - S_{tk}}$$

Teneinde effecten van onderhoudsmetabolisme en afsterving van de biomassa te ontlopen, is het aangeraden Y_H te schatten uit een plot van de verschillende Y_{tk} -waarden in functie van de tijd (Figuur 3). Y_H wordt bekomen als de reciproke waarde van het intercept.

Sollfrank & Gujer (1991) en Brands *et al.* (1994) bepalen Y_H op basis van respiatiemetingen. Een bepaalde hoeveelheid COD wordt in een batch reaktor gebracht en men meet de zuurstofopname voor substraatoxidatie (de exogene respiratie (OUR_{ex} , exogenous oxygen uptake rate), i.e. de OUR na eliminatie van endogene respiratie en zuurstofopname voor nitrifikatie). Volgende vergelijking laat onmiddellijk toe de COD-fractie ingebouwd in de biomassa te bekomen:

$$Y_H = \frac{COD^{Degraded} - \int OUR_{ex}(t) dt}{COD^{Degraded}}$$

Uiteraard wordt de afgebroken hoeveelheid COD bepaald uitgaande van de kennis van de inerte substraatfractie S_i (zie Roeleveld in deze proceedings). Brands *et al.* (1994) omzeilen het S_i -probleem door een test uit te voeren met Na-acetaat als enig substraat waardoor de $COD^{Degraded}$ exact gekend is. Het weze opgemerkt dat deze werkwijze uiteraard ook geldt voor andere volledig biodegradeerbare substraten. Er zijn echter een aantal gevaren verbonden aan deze methode zoals onze eigen ervaring heeft geleerd (resultaten niet gepubliceerd). Ten eerste is de keuze van acetaat vrij arbitrair en is er geen evidentie dat de opbrengstcoëfficiënt voor azijnzuur dezelfde is als deze voor de substraten in het beschouwde afvalwater. Daarnaast dient men uit te kijken voor het fenomeen dat onder de aangelegde experimentele omstandigheden (batch) reservestoffen kunnen opgeslaan worden in de cel. De zuurstofvraag die hier dan ook wordt gemeten is enkel die zuurstof nodig voor het transport van het substraat en de inbouw in de opslagprodukten. De feitelijke modelopbrengstcoëfficiënt wordt bijgevolg niet gemeten omdat het substraat niet volledig wordt gemetaboliseerd tot nieuwe cellen. Dit fenomeen verklaart waarom soms vrij onwaarschijnlijke opbrengstcoëfficiënten van 0.8 g biomassa-COD/g substraat-COD worden berekend uit bovenstaande formule.

Autotrofe opbrengstcoëfficiënt Y_A

Deze parameter wordt in het IAWQ model n°1 rapport als vrij invariant omschreven en er wordt aangeraden terug te vallen op de literatuurwaarde van 0.24 g COD/g N^{Nitrifield}. Deze uitspraak volgt natuurlijk uit de doelstellingen die voor het model gesteld zijn, i.e. beschrijving van het gedrag van de elektronacceptoren en slibproductie. In het geval van de zuurstofvraag is het duidelijk dat effecten van veranderingen in (de vrij lage) Y_A op het hoge zuurstofverbruik voor nitrifikatie (4.33 g O₂ per g N voor $Y_A=0.24$) bijna verwaarloosbaar zijn. Ook naar de totale slibproductie toe, de tweede doelstelling van het model, is weinig invloed te verwachten door de lage waarde van de Y_A -parameter.

Indien er geen gelijktijdige netto aanwas is van heterotrofen, kan de autotrofe opbrengstcoëfficiënt bepaald worden uit een batch respiratie-experiment waar een bepaalde hoeveelheid ammonium wordt toegevoegd aan een nitrificerend actief slib monster (Spanjers & Vanrolleghem, 1995). De gekumuleerde zuurstofopname voor nitrifikatie (OUR_{nit} , bekomen na eliminatie van endogene respiratie) laat toe Y_A te berekenen:

$$Y_A = \frac{4.57(NH_4^+ - N) - \int OUR_{nit}(t) dt}{4.57(NH_4^+ - N)}$$

Indien toch heterotrofe groei optreedt (bv. omdat tegelijkertijd ook acetaat is toegediend in de reaktor ter karakterisering van de heterotrofen, bv. Vanrolleghem & Verstraete, 1993), moet een correctie van de voor nitrifikatie beschikbare ammonium worden doorgevoerd, met name moet de stikstof ingebouwd in de heterotrofe biomassa in rekening worden gebracht:

$$NH_4^+ - N = (NH_4^+ - N) - i_{XB} Y_H COD^{Degraded}$$

Tevens moet nu naast de endogene ook de heterotrofe respiratiesnelheid afgetrokken worden van de totaal opgemeten respiratiesnelheid bij de berekening van OUR_{nit} . In een modelgebaseerde aanpak zoals die beschreven in Spanjers en Vanrolleghem (1995), wordt dit impliciet gedaan bij de fit van het model aan de data bekomen uit een dergelijk batch-experiment.

Als eindbemerking bij deze methode moet gesteld worden dat de betrouwbaarheid vrij beperkt is, daar Y_A volgt uit het verschil van twee grote (en met meetfouten behepte) getallen.

Stikstofgehalte van de biomassa i_{XB}

Indien men de algemeen aanvaarde biomassasamenstellingsformule C₅H₇O₂N overneemt, komt men tot een i_{XB} -waarde van 0.086 gN per g biomassa-COD (Henze *et al.*, 1987). Een chemische analyse van het slib laat uiteraard toe om de organische stikstof- en COD-gehalten te bepalen en daaruit een geactualiseerde i_{XB} te bepalen.

Inerte fraktie van de biomassa-COD f_P

Voor de interpretatie van de elektronacceptorbalansen speelt deze parameter slechts een beperkte rol en wordt daarom ook meestal vastgesteld op de literatuurwaarde van 0.08 g COD/g biomassa-COD (Henze *et al.*, 1987). Deze waarde stemt binnen het "death-regeneration" concept overeen met de algemeen aanvaarde waarde dat 20 % van de biomassa uit inert materiaal bestaat. Het "death-regeneration" concept dat door de IAWQ Task Group werd weerhouden leidt ertoe dat biomassa enkele keren wordt gerecycleerd bij afsterving. Men kan de model- f_P -waarde berekenen uitgaande van de biologische waarde f'_P aan de hand van volgende impliciete vergelijking:

$$f'_P = \frac{f_P}{1 - Y_H(1 - f_P)}$$

Bijgevolg moet de f_P -waarde aangepast worden indien een andere opbrengstcoëfficiënt wordt gevonden voor het bestudeerde actiefslib systeem.

Stikstofgehalte van de inerte biomassa-COD i_{XP}

Voor deze parameter valt men voor zover bekend terug op de literatuur, $i_{XP}=0.06$ gN/g COD (Henze *et al.*, 1987).

KINETISCHE PARAMETERS

Heterotrofe afstervingscoëfficiënt b_H

Het belang van een juiste waarde van de afstervingscoëfficiënt voor de schatting van de slibproductie en zuurstofvraag wordt sterk benadrukt in het IAWQ rapport (Henze *et al.*, 1987). Het "death-regeneration" concept zoals opgenomen in het IAWQ model nr 1, maakt echter dat de klassieke methoden voor bepaling van de afsterving van biomassa niet rechtstreeks kunnen gebruikt worden. Gelukkig kunnen de parameters van het ene concept vertaald worden in het andere. Net zoals de model- f_p berekend wordt uit de chemisch bepaalde biologische f_p (zie hoger), kan ook de afstervingscoëfficiënt b_H berekend worden uitgaande van de meer klassieke biologisch bepaalde endogene coëfficiënt b'_H :

$$b_H = \frac{b'_H}{1 - Y_H(1 - f_p)}$$

Men merkt op dat opnieuw de stoichiometrische parameters Y_H en f_p nodig zijn voor de schatting van b_H . Hierbij aansluitend is het goed de lezer erop te wijzen dat deze omrekening niet nodig is in het geval van de afsterving van de autotrofen (b_A) aangezien daar geen gebruik wordt gemaakt van het "death-regeneration" concept.

De methode die door de IAWQ Task Group naar voor geschoven werd, was het protocol voorgesteld door Marais en Ekama (1976). Een slibmonster wordt in een beluchte en niet gevoede batch-reaktor geplaatst en de zuurstofopnamesnelheid wordt voor een aantal tijdstippen t_k gemeten. Plotten van de logaritme van deze endogene respiratie OUR_{end} (Sollfrank & Gujer, 1991):

$$OUR_{end} = (1 - f'_p) \cdot b'_H \cdot X_{BH}$$

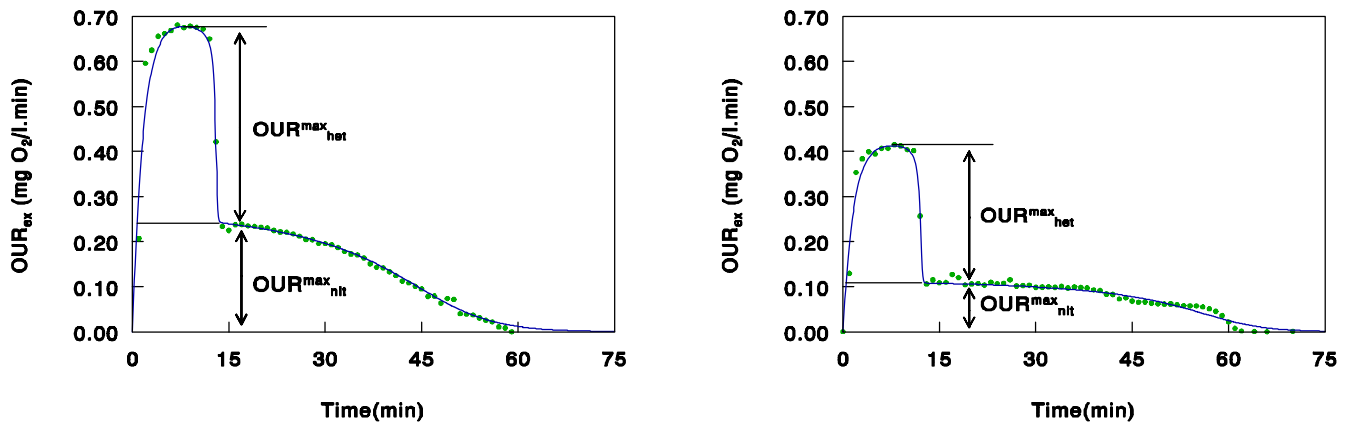
als functie van de tijd laat toe de exponentiële afname van de heterotrofe biomassa te visualiseren als een rechte lijn met helling b'_H . Tenslotte gebeurt de vertaling naar de IAWQ model n° 1 afstervingscoëfficiënt met behulp van boven vermelde vergelijking en de kennis van f_p en Y_H .

Spanjers en Vanrolleghem (1995) schatten de afname van de heterotrofe biomassa op een andere manier. De techniek is gebaseerd op de zuurstofopnamesnelheid voor substraatoxidatie die net als de endogene respiratie evenredig is met de aanwezige heterotrofe biomassaconcentratie:

$$OUR_{ex} = \mu_H \cdot \frac{1 - Y_H}{Y_H} \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S} \cdot \frac{S_O}{K_{O,H} + S_O} \cdot X_{BH}$$

Indien men voldoende zuurstof S_O en substraat S_S toedient, vervallen beide "switching" functies en is de opgenomen OUR_{ex} evenredig met X_{BH} . Bijgevolg kan de afsterving van de heterotrofe biomassa gevolgd worden door (i) op geregelde tijdstippen t_k een slibmonster te nemen uit de beluchte en niet gevoede batch-reaktor, (ii) er een hoeveelheid substraat (bv. Na-acetaat) toe te voegen die de organismen tot maximale respiratie brengt en (iii) de maximale respiratiesnelheid te meten. Indien de opbrengstcoëfficiënt en de maximale specifieke groeisnelheid μ_H konstant blijven gedurende de inkubatie, laat een plot van de logaritme van de opgemeten $OUR_{ex}(t_k)$ in functie van de inkubatietijd toe de afstervingscoëfficiënt b'_H te bepalen als de helling van de regressielijn.

Een gelijkaardige aanpak laat ook toe de afsterving van de autotrofe biomassa te kwantificeren door als substraat ammoniumstikstof te doseren (zie verder). Vanrolleghem en Verstraete (1993) stelden een experimenteel ontwerp op dat toelaat de beide heterotrofe en autotrofe maximale respiratiesnelheden in één enkel experiment te bepalen. Het voorgestelde experiment bestaat erin een mengsel van ammonium en een koolstofbron (bv. azijnzuur) toe te voegen aan endogeen respirerend slib. De resulterend respirogrammen (bv. Figuur 4) laten toe om de evolutie van de maximale respiratiesnelheid voor koolstofoxidatie en nitrifikatie vast te stellen. Spanjers en Vanrolleghem (1995) stelden dan ook voor dergelijke experimentele data te gaan gebruiken voor de simultane bepaling van de heterotrofe en autotrofe afstervingscoëfficiënt. In Figuur 4 worden de OUR_{ex} -metingen bekomen in twee experimenten genomen na 1 respectievelijk 7 dagen getoond en duidelijk is de afsterving vast te stellen. Een procedure die toelaat de juiste samenstelling van het C/N-mengsel vast te stellen om zo de betrouwbaarheid van deze bepaling te garanderen werd uitgewerkt (Vanrolleghem & Van Daele, 1994).



Figuur 4 Respirogrammen bekomen na injectie met een acetaat/ammonium mengsel voor de simultane bepaling van b_H en b_A volgens de procedure van Spanjers & Vanrolleghem (1995). Links op dag 1 van de inkubatie, Rechts na 7 dagen.

Vanrolleghem *et al.* (1992) beschreven een snellere methode voor de schatting van b'_H uitgaande van slechts één endogene respiatiemeting (in afwezigheid van nitrifikatie). Met de boven aangehaalde vergelijking die OUR_{end} beschrijft, kan de afstervingscoëfficiënt berekend worden indien de inerte biomassafraaktie f_p en de concentratie heterotrofen gekend zijn.

Lishman & Murphy (1994) plaatst enkele nuttige randbemerkingen bij het gebruik van een meting van de endogene respiratiesnelheid voor de bepaling van de afstervingscoëfficiënt. Deze opmerkingen vloeien voort uit het verschil tussen het endogene respiratie concept waarop de schattingsmethoden gebaseerd zijn en het death-regeneration concept waarmee het model werkt.

Ten eerste wordt in het model impliciet aangenomen dat de stoffen die bij celdood vrijkomen, kunnen gelijkgesteld worden met de component X_s in het afvalwater. Als gevolg van deze aanname wordt ook de hydrolysesnelheid (en dus de snelheid van de eerste snelheidsbepalende stap in de regeneratie) overgenomen van deze reactie.

Een tweede opmerking volgt uit het feit dat men in het “death-regeneration” concept te maken heeft met een sequentie van 3 reacties (afsterving, hydrolyse en groei) waarbij men de bedoeling heeft de zuurstofopname in de laatste stap van de sequentie te gebruiken om inzicht te krijgen in het eerste (afstervings)proces. Om dit echter te verantwoorden, moet aan de voorwaarde voldaan zijn dat de afsterving de snelheidsbepalende stap is en er bijgevolg pseudo-steady state voorwaarden gelden voor de intermediären S_s en X_s . Alleen dan kan b_H uit de zuurstofopnamesnelheid worden afgeleid met bovenstaande methoden. Merk op dat de eerste opmerking van Lishman en Murphy (1994) vervalt indien aan deze pseudo steady state voorwaarde voldaan is.

Autotrofe afstervingscoëfficiënt b_A

Vooraf is het goed de lezer erop te wijzen dat er geen “death-regeneration” concept aangewend werd voor de autotrofe biomassa waardoor de bepaling van de afstervingscoëfficiënt volledig kan teruggrijpen op de klassieke methoden.

In verschillende methoden wordt de maximale nitrifikatiesnelheid van het slib gedurende een periode (dagelijks) gemeten in een batch-reaktor waaraan geen stikstofbron wordt toegediend. De daling in deze maximale OUR_{nit} is equivalent met de exponentiële afname in de autotrofe biomassaconcentratie X_{BA} op voorwaarde dat voldoende ammoniumstikstof en zuurstof worden voorzien in de uitgevoerde batch-experimenten, zoals de vergelijking voor de OUR voor nitrifikatie weergeeft:

$$OUR_{nit} = \mu_A \cdot \frac{4.57 - Y_A}{Y_A} \cdot \frac{S_{NH}}{K_{NH} + S_{NH}} \cdot \frac{S_O}{K_{O,A} + S_O} \cdot X_{BA}$$

Lineaire regressie van de logaritme van de maximale OUR_{nit} -metingen ten opzichte van de inkubatietijd geeft de autotrofe afstervingscoëfficiënt als de waarde van de helling.

De b_A - en b_H -bepaling kan simultaan gebeuren met het protocol van Spanjers en Vanrolleghem (1995).

Lesouef *et al.* (1992) baseren hun b_A -schatting op een aantal opeenvolgende metingen van de ammonium opnamesnelheid (AUR) van een actief slib monster dat gedurende 0.5 of 1 dag in afwezigheid van extern toegevoegd ammonium wordt geaereerd.

Nowak *et al.* (1994) merken op dat het intrinsiek moeilijk is b_A te schatten uit een experiment waarin het slib wordt belucht omdat dit toelaat dat nitrificerende organismen toch (weliswaar beperkt) kunnen groeien op basis van de stikstof die vrijkomt bij afsterving van de heterotrofen in het actief slibmonster. Daarom stelden zij voor om het slib onder anoxische voorwaarden te inkuberen zodat een anoxische afstervingscoëfficiënt wordt bekomen. Merk op dat ook in hun aanpak dagelijks een monster van het slib wordt genomen waarvan (na aeratie van het monster) de maximale OUR_{nit} werd bepaald. De anoxische b_A bleek 50 % lager te liggen dan die bepaald onder aerobe inkubatie.

Heterotrofe max. groeisnelheid μ_H en affiniteitskonstante K_S

De groeikinetiek van zowel autotrofen als heterotrofen wordt in het IAWQ model n° 1 beschreven door een Monod-afhankelijkheid van de groeisnelheid aan de substraatconcentratie. Een equivalent verloop wordt geïllustreerd in Figuur 6. De maximale specifieke groeisnelheid en de affiniteitskonstante bepalen dergelijk verloop en dienen dus geschat te worden.

Een reeds lang bekende en vrij voor de hand liggende methode ter bepaling van de groeikinetiek werd beschreven door Chudoba *et al.* (1985) en werd ook aangeraden door de IAWQ Task Group. Een aantal experimenten worden uitgevoerd die elk één punt aan de grafiek $\{\mu, S_S\}$ toevoegen. De methode vertrekt vanuit een batch reaktorvat waarin zich endogeen respirerend slib bevindt (typisch bekomen na enkele uren beluchting zonder substraattoediening). Op een bepaald tijdstip wordt een gekende hoeveelheid substraat toegevoegd aan de gemengde vloeistof waarna de toename in respiratiesnelheid die daarvan het gevolg is, wordt gemeten. Per definitie is deze toename in OUR te wijten aan substraatoxidatie en is dus gelijk te stellen met de eerder gedefinieerde OUR_{ex} . De respiratiesnelheid kan nu worden omgerekend tot specifieke groeisnelheden met volgende formule:

$$\mu = \frac{Y_H}{1 - Y_H} \cdot \frac{OUR_{ex}}{X_{BH}}$$

Het is duidelijk dat het voor deze manier van werken nodig is kennis te hebben van de opbrengstcoëfficiënt en de fractie heterotrofen in het actief slib. Bovendien moet de substraatconcentratie in het monster bekend zijn. De parameters μ_H en K_S volgen dan door fitten van de Monod-vergelijking

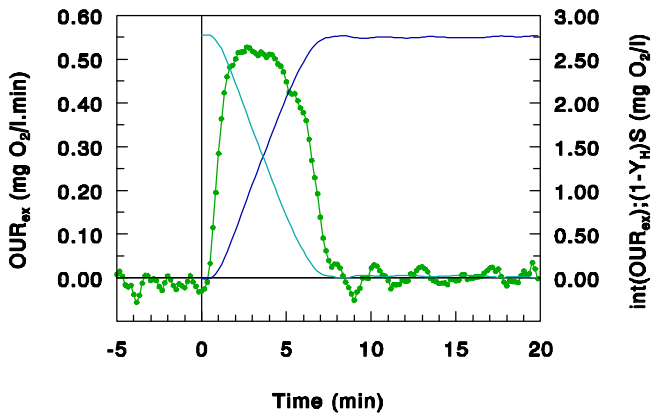
$$\mu = \mu_H \cdot \frac{S_S}{K_S + S_S}$$

via linearisatie (bv. Lineweaver-Burk) of niet-lineaire parameterschatting (zie verder).

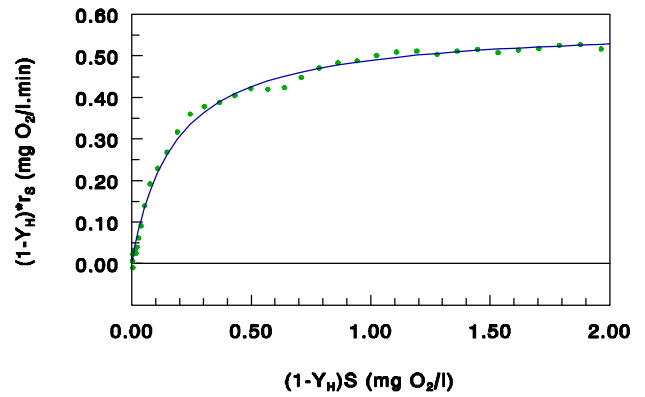
In sommige gevallen is het afvalwater zo sterk verdund dat de initiële concentratie in het reaktorvat waar de OUR_{ex} wordt gemeten, te laag is om het saturerend karakter goed te evalueren. Slade & Dare (1993) stelden daarom een op vriesdrogen gebaseerde concentratietechniek voor die toelaat de initiële substraatconcentratie op te drijven.

Met de efficiëntie van de modelkalibratie en de experimentele inspanningen in het achterhoofd is het toch wel belangrijk op te merken dat de hierboven beschreven methode eigenlijk veel overbodig experimenteel werk meebrengt. Om dit te verduidelijken hernemen we de voorstelling gemaakt door Kong *et al.* (1994).

Indien men het gedrag beschouwt van slib in een respiratievat dat als batchreaktor wordt bedreven, stelt men een toename van de respiratie voor substraatoxidatie vast van zodra substraat wordt toegediend (Figuur 5). In de methode van Chudoba *et al.* (1985) wordt uit dergelijk experiment slechts 1 meetpunt weerhouden, i.e. de respiratiesnelheid horend bij de substraatconcentratie in het reaktorvat die is af te leiden uit de gekozen verdunning van de gekende substraatconcentratie in het toegediende monster. Belangrijk voor de verdere uiteenzetting is in te zien dat dit toegediende substraat verder zal worden afgebroken door het actief slib waardoor in feite elke substraatconcentratie lager dan de initiële concentratie in de gemengde vloeistof zal voorkomen naarmate de tijd vordert.



Figuur 6 OUR_{ex} (symbolen), kumulatieve zuurstofopname (stijgende lijn) en substraatconcentratie (dalende lijn) opgenomen in een batch experiment



Figuur 5 OUR_{ex} versus substraat plot die toelaat de groeikinetiekparameters te schatten

Indien men dus in staat zou zijn zowel deze substraatconcentratie als de respiratiesnelheid in de batch-reaktor te gaan meten (of te rekonstrueren), dan zou één experiment volstaan om de volledige heterotrofe groeikinetiek te specificeren. Dit is de aanpak die in Figuur 5 wordt aangebracht. Met een respirometer die OUR_{ex} met hoge meetfrequentie bepaald (hier 1 meting per 10 seconden), wordt een gedetailleerde dataset van $OUR_{ex}(t_k)$ bekomen. De substraatverwijderingssnelheid uit de batchreaktor en OUR_{ex} zijn aan elkaar gekoppeld in het IAWQ-model via:

$$\frac{dS_s}{dt} = \frac{OUR_{ex}}{1 - Y_H}$$

en na integreren van deze vergelijking bekomt men:

$$S_s(t_k) = S_s(0) - \frac{1}{1 - Y_H} \left(\int_0^{t_k} OUR_{ex} dt \right)$$

waarin de initiële substraatconcentratie ook gegeven wordt als functie van de volledige set opgemeten OUR_{ex} , meer bepaald:

$$S_s(0) = \frac{1}{1 - Y_H} \left(\int_0^{t_{fin}} OUR_{ex} dt \right)$$

waarin t_{fin} het tijdstip voorstelt waarop het substraat uit de oplossing is verdwenen en waar $OUR_{ex}=0$. Merk op dat er bijgevolg geen noodzaak bestaat de substraatconcentratie in het monster op voorhand te bepalen; ze volgt immers uit de respirometingen zelf. Deze uiteenzetting laat zien dat met kennis van Y_H (zie hoger) een volledig substraatconcentratieprofiel kan gerekonstrueerd worden (Figuur 5, dalende lijn).

Hier gekomen heeft men de beschikking over een dataset van OUR_{ex} - en substraatconcentratie-metingen in functie van de meettijdstippen t_k . Het is nu eenvoudig de tijd te elimineren en een figuur op te stellen waar de datakoppels $\{S_s(t_k), OUR_{ex}(t_k)\}$ ten opzichte van elkaar worden uitgezet. Figuur 6 toont het resultaat van zo'n oefening met de data van Figuur 5. Men herkent duidelijk het typische saturatiegedrag van de respiratiesnelheid. Na herwerking van de OUR_{ex} data tot groeisnelheden m.b.v. de schattingen voor Y_H en X_{BH} (zie hoger), kan men vervolgens de μ_H en K_S schatten uit deze plot.

De boodschap van deze uiteenzetting is dat men in staat is de groeikinetiek te kalibreren op basis van één batch experiment (waarin de initiële substraatconcentratie voldoende hoog is opdat saturatie van de groeisnelheid zou optreden).

Het is mogelijk nog een stap verder te zetten. Het is namelijk niet nodig de omzetting tot een $\{S_s, OUR_{ex}\}$ -plot te maken daar een rechtstreekse fit van het wiskundig model aan de $\{OUR_{ex}(t_k), t_k\}$ data leidt immers tot dezelfde parameters aangezien hetzelfde model ten grondslag ligt van de interpretatie van de data (Vanrollegheem & Keesman, 1995). De bovenstaande ontwikkeling naar de $\{OUR_{ex}, S_s\}$ -plot

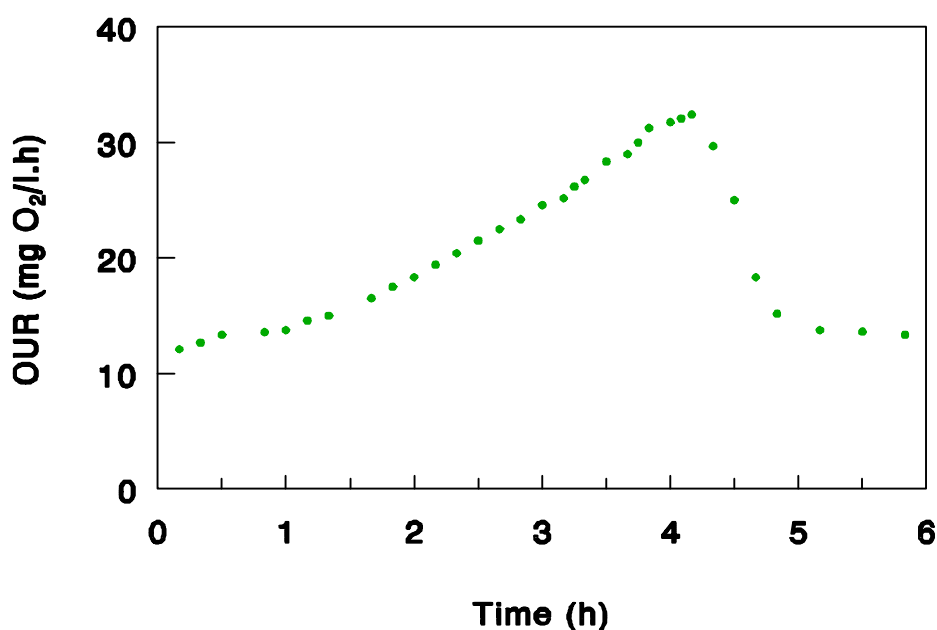
toe had vooral tot doel te illustreren dat één opgenomen respirogram alle nodige informatie bevat voor kalibratie van degroeikinetiek. Het is dus “overkill” een apart respirometrisch experiment uit te voeren voor elk $\{OUR_{ex}, S_S\}$ koppel zoals door Chudoba *et al.* (1985) werd voorgesteld.

Sollfrank & Gujer (1991) pasten deze laatste model-fit-methode reeds toe, maar de gebruikte data waren niet afkomstig van echte batch experimenten. Pulsen van substraat-COD werden toegediend aan de gemengde vloeistof van een pilootreaktor (wat uiteindelijk dicht overeenstemt met een batch-experiment). De resulterende OUR_{ex} -profielen werden gebruikt om de parameters μ_H en K_S te gaan aanpassen tot optimale fit tussen modelvoorspelling en respiratiesnelheidsmeting. Opnieuw is kennis van Y_H vereist.

Een batch experiment met hoge afvalwater/slib-mengverhouding werd voorgesteld door Kappeler & Gujer (1992). Het moet eveneens toelaten op basis van één experiment zowel de maximale specifieke groeisnelheid μ_H als de K_S te schatten. In Figuur 7 wordt een respirogram bekomen met dit proefopzet weergegeven. Voor de bepaling van μ_H is de kennis van Y_H niet nodig. Dit is het gevolg van het feit dat er exponentiële groei kan waargenomen worden als gevolg van de duidelijke overmaat substraat. Dit biedt duidelijk voordelen, maar zoals verder zal blijken, is ook een nadeel verbonden aan het feit dat ongelimiteerde groei kan plaatsvinden.

Een plot van de logaritme van de OUR -metingen in functie van de tijd heeft als helling $(\mu_H - b_H)$. Mits kennis van b_H kan μ_H dus berekend worden. Kappeler en Gujer (1992) veronderstellen gemakshalve dat de bepaling van de heterotrofe afstervingscoëfficiënt niet echt nodig is. Zij stellen zich tevreden met de opmerking dat aangenomen mag worden dat b_H/μ_H ongeveer 0.05 bedraagt. Bijgevolg is de gemeten exponent $(\mu_H - b_H)$ in de OUR dataset bekomen uit het voorgestelde batch-experiment een directe maat voor de maximale heterotrofe groeisnelheid μ_H .

Er dient opgemerkt te worden dat de substraat/biomassaverhouding weerhouden in dit proefopzet (de S_{t0}/X_{t0} bedraagt ongeveer 4/1) aanleiding geeft tot significante groei van de biomassa tijdens het experiment. Chudoba *et al.* (1992) hebben duidelijk aangetoond dat biomassa-aanwas aanleiding geeft tot een wijziging van de microbiële samenstelling van het actief slib waardoor de waargenomen kinetische karakteristieken niet langer representatief zijn voor de populatie, maar voor één bepaald organisme dat dominant wordt gedurende het experiment. In het geval van de batch-experimenten hierboven beschreven, is het duidelijk dat de snelste groeier bepalend zal worden voor de geschatte μ_H . Novak *et al.* (1994) toonden dit overtuigend aan in hun vergelijking van verschillende schattingsexperimenten met verschillende S_{t0}/X_{t0} -verhoudingen: Een 2.5 keer hogere groeisnelheid werd bekomen in het batch-experiment met lage initiële biomassakoncentratie.

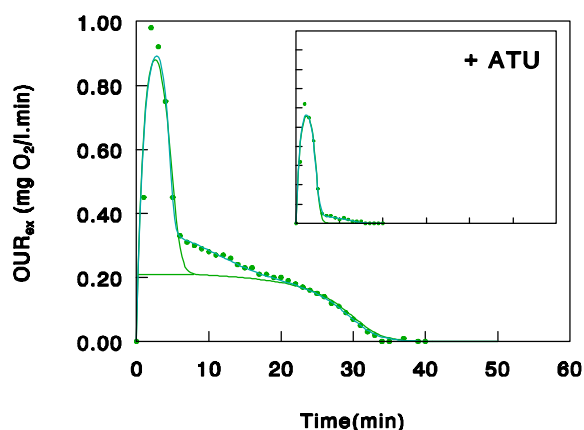


Figuur 7 Respiratiesnelheid opgemeten in een batch experiment voor de schatting van μ_H (naar Kappeler & Gujer, 1992)

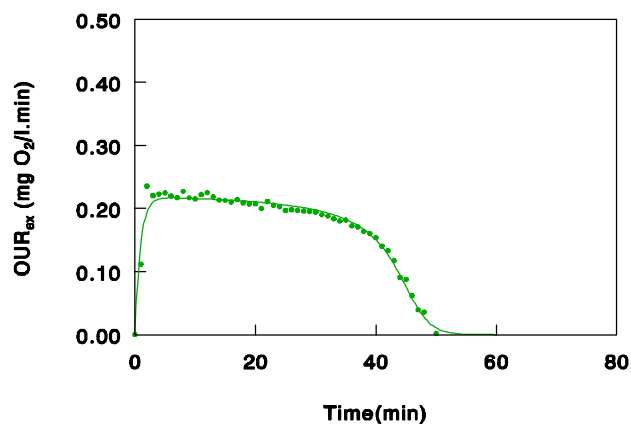
Voor de bepaling van K_S vallen Kappeler & Gujer (1992) terug op het fitten van een model voor heterotrofe groei aan het respirogram waaruit ook reeds de μ_H werd bekomen. Hoewel dit niet werd vermeld is hier impliciet wel een waarde voor Y_H nodig. Ook hier dient nog eens benadrukt te worden dat de bekomen affiniteitskonstante niet langer representatief is voor de oorspronkelijke populatie als gevolg van de te hoge S_{t0}/X_{t0} -verhouding in de door deze auteurs voorgestelde experimenten. Merk op dat de OUR-data die de informatie nopens K_S bevat, terug te vinden is op het moment dat de respiratiesnelheid terugvalt (Vanrolleghem *et al.*, 1995). In Figuur 7 is dit na ongeveer 4.25 uur. Dit is echter net het moment waar de populatiewijziging maximaal geworden is. Het is aannemelijk te veronderstellen dat deze experimenten niet alleen aanleiding geven tot te hoge μ_H -schattingen, maar tevens tot te hoge K_S -waarden aangezien algemeen aanvaard is dat snelle groeiers gekenmerkt zijn door vrij hoge affiniteitskonstanten gezien hun kompetitiestrategie.

Met dit fenomeen in gedachten stelden Spanjers & Vanrolleghem (1995) experimenten voor waarbij de substraat-biomassaverhouding gevoelig lager lag. Met name werden 2 experimentele proefopzetten voorgesteld, één met een $S_{t0}/X_{t0}=1/200$ en één met een $S_{t0}/X_{t0}=1/20$. Met dergelijke experimenten kan de biomassagroei verwaarloosbaar verondersteld worden en kunnen de gevonden biokinetische parameters als relevant voor het actief slib monster beschouwd worden. Uiteraard worden in dergelijk opzet andere eisen gesteld aan de meetapparatuur. Door de eis voor een kleine S_{t0}/X_{t0} -verhouding en de noodzaak om voldoende hoge substraatconcentraties in het respiatievat te hebben om de saturatie goed te kunnen bepalen, wordt het noodzakelijk experimenten uit te voeren met hoge biomassaconcentratie. Als gevolg hiervan zijn de experimenten uiteraard vrij kort (het substraat is typisch uitgeput na 10 tot 120 minuten) wat uiteraard voordelig is, maar wat tegelijkertijd ook limitaties oplegt aan de gebruikte OUR-meettechniek. Inderdaad, teneinde voldoende meetpunten in de OUR-dataset te verzamelen, dient de meetfrequentie van de respiratiesnelheid voldoende hoog te zijn en wordt bijvoorbeeld de klassieke "BOD-bottle" techniek (DO-decay in een gesloten vat) onbruikbaar vanwege het typische 5 minuten interval tussen opeenvolgende metingen. Deze eis wordt nog versterkt indien ook de affiniteitskonstante K_S uit deze experimenten dient geschat te worden (zie het laatste deel niet-lineaire parameterschatting).

Aangezien Spanjers en Vanrolleghem (1995) streven naar een beperkte set experimenten voor de kalibratie van slib en afvalwater, werd de interpretatie van de respiatiemetingen uitgevoerd met dit oogmerk. Niet alleen werd getracht het afvalwater te karakteriseren naar koolstof- en stikstoffracties (zie Roeleveld in deze proceedings), maar ook de gelijktijdige schatting van een zo groot mogelijk aantal biokinetische parameters werd nagestreefd. Het concept zal nu worden geïllustreerd aan de hand van Figuren 8 en 9. Het respirogram afgebeeld in Figuur 8 is een zogenaamd $\{S_{t0}/X_{t0}=1/200\}$ -experiment. Men stelt een piek in de OUR_{ex} vast die te wijten is aan S_s , gevolgd door een schouder die de som is van de zuurstofopname voor oxidatie van substraten vrijkomend uit hydrolyse en de nitrifikatie. De bijdrage van de OUR voor nitrifikatie kan duidelijk aangewezen worden indien men het respirogram in de inzet beschouwt. Deze werd bekomen uit een volledig gelijkaardig experiment, maar met toediening van de nitrifikatie-inhibitor ATU.



Figuur 8 Respirogram na injectie van 70 ml afvalwatermonster aan 1.5 l actief slib. Inzet: idem, maar na toediening van ATU nitrifikatie-inhibitor.



Figuur 9 Respirogram bekomen na injectie van 3.31 mg ammonium-N in 1.4 l actief slib.

De kinetische parameters voor de heterotrofe biomassa kunnen nu worden geschat door fitten van het mathematisch model aan deze respirometrische data. De enige parameter die nog dient gespecificeerd te worden is de heterotrofe opbrengstcoëfficiënt, naast de fraktie heterotrofen in het slib. In het geval waarbij de nitrifikatiezuurstofvraag is geëlimineerd door toediening van ATU (Inzet in Figuur 8) is de parameterschattingsoefening vrij eenvoudig. Er wordt echter melding gemaakt van mogelijk negatieve effecten van ATU op de heterotrofe biomassa, en bovendien is dergelijke toediening naar de nitrificerende populatie van destructieve aard. Daarom werd gezocht naar een andere aanpak die hierna wordt uiteengezet.

De basisidee is de volgende: Indien men de kinetische parameters van het nitrifikatieproces kent, dan is het mogelijk de bijdrage van nitrifikatie in de zuurstofvraag te elimineren via het model dat dit proces beschrijft. In Figuur 9 wordt een respirogram getoond dat bekomen is met hetzelfde actief slib als gebruikt voor het opnemen van Figuur 8. Aangezien hier enkel ammonium werd toegediend, is de OUR hier volledig toe te schrijven aan nitrifikatie. Men stelt vast dat dit respirogram bijna perfect kan beschreven worden door het nitrifikatiemodel (zie verder). Indien we nu Figuur 8 met deze kennis opnieuw bekijken, stellen we vast dat (i) de schouder een konstante waarde vertoont rond 0.20 mg O₂/l.min wat overeenkomt met de maximale respiratiesnelheid voor nitrifikatie zoals vastgesteld in Figuur 9 en (ii) ook de wijze van afname van de respiratiesnelheid bij het einde van het respirogram (te wijten aan de waarde van de affiniteitskonstante K_{NH}) heel gelijkaardig is.

Het is dus aannemelijk te veronderstellen dat de data gegeven in Figuur 9 voldoende informatie verschaft om de zuurstofopname voor nitrifikatie in het respirogram van Figuur 8 te elimineren via het model. Daartoe zal men in het globale model dat zowel heterotrofe als autotrofe zuurstofvraag beschrijft, de biokinetische parameters van de nitrifikatie vastzetten op de waarde bekomen uit de fit van Figuur 9. Het enige probleem dat zich nog stelt, is de schatting van de hoeveelheid stikstof in het afvalwatermonster. Deze hoeveelheid zal immers bepalen hoe lang de schouder wordt en we laten deze waarde dan ook mee bepalen door de parameterschatter (Merk op dat we dan ook als resultaat van de parameterschatting een waarde krijgen van de stikstofconcentratie in het afvalwatermonster). De resultaten gerapporteerd in Spanjers en Vanrolleghem (1995) geven duidelijk aan dat beide aanpakken (ATU-eliminatie en model-gebaseerde eliminatie van de nitrifikatie-OUR) tot dezelfde biokinetische en afvalwaterkarakteristieken leiden.

Ook Novak *et al.* (1994) stelden een methode voor om de heterotrofe groeisnelheid af te leiden uit batch-experimenten met een S_{t0}/X_{t0} = 0.1, waarbij aangenomen werd dat onder deze belasting toch de maximale zuurstofopnamesnelheid werd gemeten. Dit zou echter systematisch moeten nagegaan worden. Aangezien enkel heterotrofe zuurstofopname nodig is in de voorgestelde methode diende het zuurstofverbruik voor nitrifikatie geëlimineerd te worden. Er werd niet geopteerd voor de toediening van nitrifikatie-inhibitor (bv. ATU), maar de zuurstofopname voor nitrifikatie OUR_{nit} werd door deze auteurs berekend op basis van de ammonium opnamesnelheid AUR (OUR_{nit} = 4.33 AUR), waarna de heterotrofe zuurstofopname volgt uit het verschil tussen totale en nitrifikatie OUR. De maximale heterotrofe groeisnelheid volgt dan uit de reeds boven aangehaalde formule:

$$\mu_H = \frac{OUR_{het}^{max}}{X_{BH}} \cdot \frac{Y_H}{1 - Y_H}$$

Deze auteurs besteedden geen aandacht aan de affiniteitskonstante van het slib.

Autotrofe max. groeisnelheid μ_A , en affiniteitskonstante K_{NH}

De volgens de Task Group aangewezen maar vrij omslachtige methode voor bepaling van de nitrifikatiekinetiek is gebaseerd op een pilootopstelling waarin de kondities voor nitrifikatie worden gewijzigd van een situatie voor de start van het experiment waarin bijna geen groei van nitrificerende organismen mogelijk is (door bv. te lage slibverblijftijd θ_x) naar een situatie waar sterke accumulatie optreedt van de nitrificerende organismen in het slib (door verhoging van θ_x). Dit uit zich in een stijging van de nitraatconcentratie in het effluent. Aangezien deze concentratie proportioneel is met de autotrofe biomassaconcentratie, kan de relatieve verandering in nitraat gebruikt worden om μ_A te schatten: de helling van de plot van de logaritme van (NO₃-N) tegenover de tijd wordt immers gegeven door ($\mu_A - 1/\theta_x - b_A$). Aangezien θ_x is opgelegd en b_A onafhankelijk te bekomen is, laat deze methode schatting van μ_A toe.

De methode van Chudoba *et al.* (1985) ter bepaling van de heterotrofe groeikinetiek kan ook hier worden toegepast, i.e. voor verschillende ammoniumconcentraties wordt de specifieke respiratiesnelheid voor nitrifikatie bepaald (opnieuw is kennis van de nitrificerende fractie vereist). De groeisnelheid, berekend uit de respiratiesnelheid na deling door $(4.57 - Y_A)$, kan vervolgens worden uitgezet als functie van de ammoniumconcentratie, waaruit de affiniteitskonstante en de μ_A evident volgen. Drtil *et al.* (1993) stelden een respirometrisch protocol voor dat minder experimenteertijd vergt bij de bepaling van de groeiparameters van een slib met lage nitrifikatiecapaciteit.

Initiële respiratiesnelheden bij bepaalde ammoniumconcentraties werden ook door Nowak *et al.* (1994) gebruikt waarna μ_A werden berekend met literatuurwaarden voor Y_A en een schatting van de autotrofe biomassa in het actief slib X_{BA} . In dit onderzoek werd specifiek gewezen op het belang van juiste condities voor bepaling van de maximale groeisnelheid, meer bepaald met betrekking tot de initiële ammoniumconcentratie en de pH van het reaktievat van de respirometer. Deze twee factoren bepalen immers de inhibitie van vrije ammoniak. Deze problematiek werd ook aangekaart door Spanjers en Vanrolleghem (1995) die gekonfronteerd werden met volledige inhibitie van de nitrifikatie toen optimale substraat-toedieningen geschieden ten behoeve van de karakterisatie van de heterotrofe groei- en hydrolysekinetiek.

Zoals reeds eerder aangegeven laten data als weergegeven in Figuur 9 toe alle parameters te bepalen die voor de nitrifikatiekinetiek van belang zijn (Spanjers & Vanrolleghem, 1995). Naast de opbrengstkoëfficiënt (zie hoger), leidt het fitten van het model voor zuurstofopname door nitrificerende organismen (zie het onderdeel rond de schatting van b_A) ook tot waarden van μ_A en K_{NH} indien de fractie autotrofen X_{BA} bekend is. Het experiment zelf is heel eenvoudig uit te voeren maar frequente metingen van de respiratiesnelheid zijn nodig voor een betrouwbare meting van de affiniteitskonstante voor ammonium. Vanrolleghem & Verstraete (1993) stelden een experimenteel proefopzet voor dat toelaat deze bepaling van de nitrifikatiekinetiek samen te laten gebeuren met een kalibratie van de heterotrofe groeikinetiek in het geval van specifieke substraten. Resultaten van dergelijke experimenten werden weergegeven in Figuur 4.

In aansluiting met hun methode ter bepaling van de heterotrofe groeisnelheid hebben Novak *et al.* (1994) ook een methode voorgesteld voor de autotrofe maximale groeisnelheid. Zij gebruikten daartoe de formule:

$$\mu_A = \frac{OUR_{nit}^{max}}{X_{BA}} \cdot \frac{Y_A}{4.57 - Y_A}$$

waarin de opbrengstkoëfficiënt Y_A , de concentratie autotrofen X_{BA} en de maximale respiratiesnelheid der autotrofen benodigd zijn. Deze laatste waarde bekwamen zij door meting van de ammonium opnamesnelheid en omrekening naar zuurstofequivalenten. Deze auteurs besteedden ook hier geen aandacht aan de affiniteitskonstante van het nitrificerend slib.

Carstensen *et al.* (1995) maakten gebruik van het alternerend karakter van een stikstofverwijderingsinstallatie om deze parameters te gaan schatten uitgaande van de informatierijke on-line meetdata van de volschalige waterzuivering (zie bv. Figuur 1). Uit de dynamika van nitraat, ammonium, zuurstof en de biomassa in de aeratietanks, werden schattingen gemaakt van 1) de maximale specifieke nitrifikatiesnelheid (die met kennis van Y_A en de fractie nitrificerende organismen kan omgerekend worden tot μ_A); 2) de affiniteitskonstante K_{NH} en 3) de zuurstof-switching function koëfficiënt K_{OA} .

Een methode die hier dicht bij aansluit, werd aangewend door Dupont en Sinkjaer (1994). Een duidelijke saturatiekinetiek werd teruggevonden wanneer de ammoniummetingen van de installatie samen met de erbij horende AUR-metingen in grafiek werden gezet. Deze grafiek laat toe de affiniteitskonstante K_{NH} onmiddellijk af te leiden. Mits kennis van de concentratie nitrificerende organismen in het actief slib en de opbrengstkoëfficiënt Y_A , is ook de maximale groeisnelheid der autotrofen berekenbaar uit deze grafiek.

Ook Lesouef *et al.* (1992) grijpen terug naar AUR-metingen om de nitrifikatiekinetiek vast te leggen. Met behulp van drie experimenten kunnen zowel de afstervingskoëfficiënt als de maximale specifieke groeisnelheid bepaald worden. In een eerste experiment uitgevoerd op tijdstip 0 wordt de maximale AUR opgemeten in aanwezigheid van voldoende ammonium. Vervolgens wordt één deel verder geïnkubeerd met een voldoende hoeveelheid ammonium, terwijl een ander deel wordt geïnkubeerd zonder

toevoeging van stikstof. AUR-metingen met het slib dat zonder stikstof werd geïnkubeerd laat toe een waarde voor b_A af te leiden. Bijgevolg kan vervolgens μ_A berekend worden uit de exponent ($\mu_A \cdot b_A$) die bepaald wordt uit de verhouding van de AUR-meting op tijdstip 0 en de AUR-meting die na inkubatie in aanwezigheid van voldoende stikstof werd bekomen.

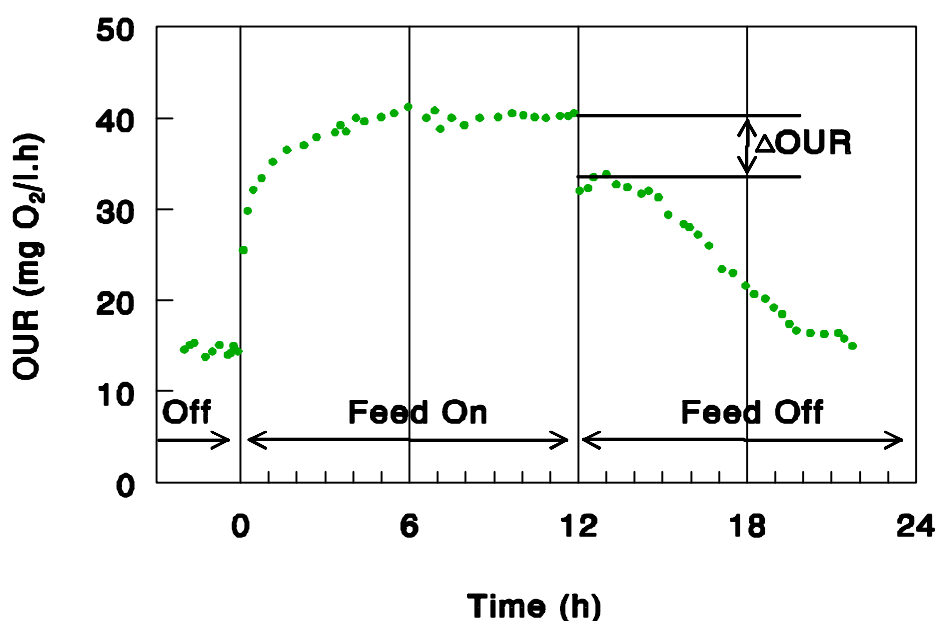
Hydrolysekonstanten k_h , K_X

Het voor zover ons bekend enige experimenteel protocol dat toelaat de beide parameters van de hydrolysekinetiek te bepalen is het "cyclic square wave feed" experiment voorgesteld door Ekama *et al.* (1986). De methode is gebaseerd op de werking van een pilootinstallatie waaraan telkens 12 uur voeding wordt gegeven, waarna de voeding gedurende 12 uur wordt gestopt. Opnieuw wordt de zuurstofopnamesnelheid opgemeten en een typisch profiel ziet eruit als in Figuur 10. We herinneren er de lezer aan dat de snelle vermindering in OUR na stopzetten van de voeding gebruikt kan worden om de S_S -concentratie van het influent te schatten. Voor het bepalen van de hydrolyseparameters is de periode net na de snelle val in OUR belangrijk. Indien op dat moment een plateau te zien is (zoals in Figuur 10 tussen uur 12 en 15), dan is dit het gevolg van het feit dat de hydrolyse aan maximale snelheid verloopt daar de biomassa verzadigd is ($X_S/X_{BH} \gg K_X$). Bijgevolg kan op dat moment de waarde van k_h gehaald worden uit de waargenomen respiratiesnelheid, op voorwaarde dat de heterotrofe biomassaconcentratie X_{BH} en de opbrengstcoëfficiënt Y_H gekend zijn. Wanneer de afbraak van X_S verder doorgaat, begint ook de hydrolysesnelheid af te nemen en de OUR gegevens leveren van dan af informatie betreffende de waarde van K_X . De beste manier om de parameters te schatten uit de OUR-metingen is het gebruik van een niet-lineair zoekalgoritme (Henze *et al.*, 1987)

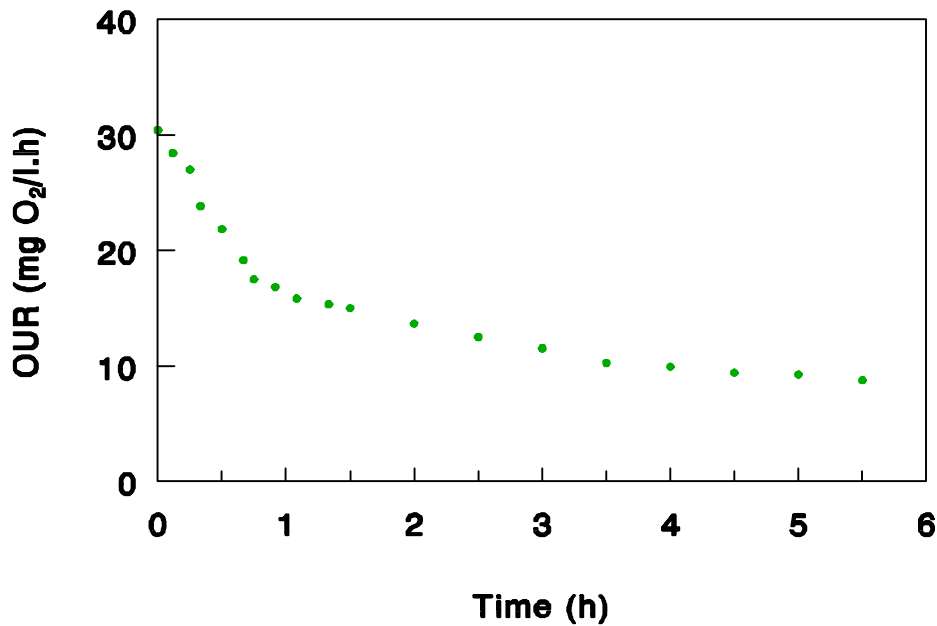
In vele gevallen kan de afhankelijkheid van de hydrolysesnelheid aan de heterotrofe biomassaconcentratie veronachtzaamd worden en bekomt men een eerste orde hydrolysereactie (Sollfrank & Gujer, 1991). Impliciet wordt daarbij aangenomen dat $X_S/X_{BH} \ll K_X$. De eerste orde reactiekinetiek die men dan bekomt (voor de eenvoud werd de afhankelijkheid van het type elektronacceptor weggelaten):

$$\rho_h = \frac{k_h}{K_X} X_S$$

laat toe het exponentieel dalen van de respiratiesnelheid in batch experimenten te beschrijven. De eerste orde coëfficiënt k_h/K_X kan onmiddellijk worden afgeleid uit een semilog-transformatie van de data of via niet-lineaire parameterschatting.



Figuur 10 Experimentele OUR-data bekomen met het proefopzet van Ekama *et al.* (1986)



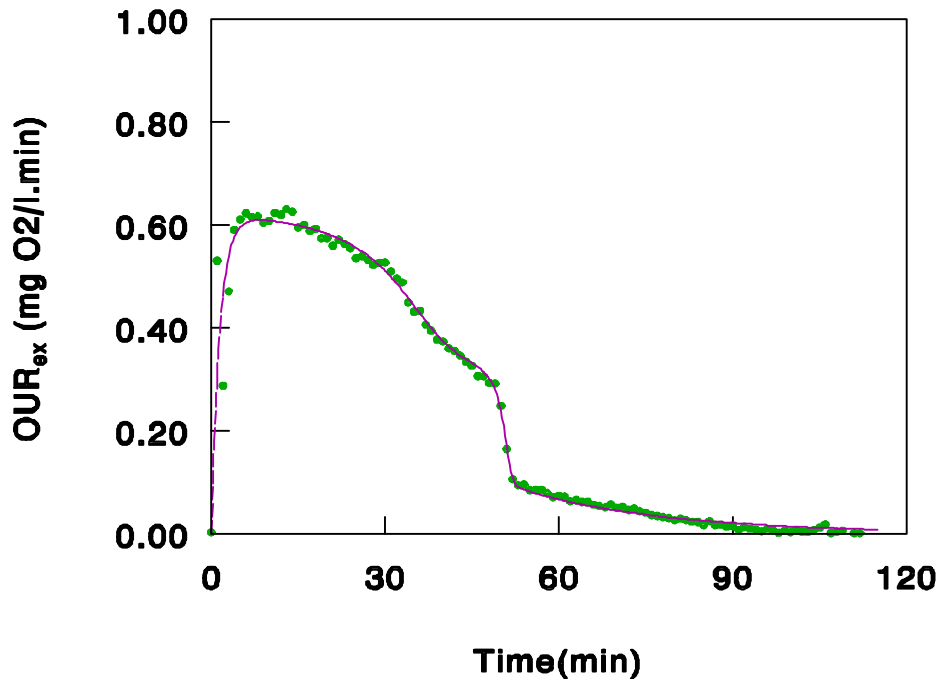
Figuur 11 Experimentele OUR-dataset bekomen met het protocol van Kappeler & Gujer (1992) voor de bepaling van de hydrolysesnelheidskonstante

Respiratiesnelheden gemeten na pulsgewijze dosering van substraat aan een continu bedreven piloot-reaktor laten toe om de eerste orde hydrolysekonstante te bepalen (Sollfrank & Gujer, 1991). Teneinde de schatting te vereenvoudigen, werd voorgesteld de respirometingen uit te zetten t.o.v. de residuele substraathoeveelheid zoals beschreven bij Figuren 5 en 6. In zo'n afgeleide grafiek kan vervolgens een lineair deel geïsoleerd worden waaruit de hydrolysekonstante k_H/K_X af te leiden is mits kennis van de opbrengstcoëfficiënt Y_H .

Voor de schatting van de hydrolysekonstante stellen Kappeler en Gujer (1992) een tweede type batch-experiment voor waarbij de initiële verhouding substraat/biomassa op COD-basis 10 maal hoger ligt dan bij het experiment ter bepaling van de maximale groeisnelheid ($S_{t0}/X_{t0}=1/2$). Een voorbeeld van dergelijke respirogram wordt gegeven in Figuur 11. Eenmaal het snel afbreekbaar substraat S_S uit de gemengde vloeistof is verwijderd (in Figuur 11 na 0.75 u), wordt de verdere afname van de respiratiesnelheid volledig bepaald door de vanaf dan snelheidsbepalende hydrolyse van X_S . Bijgevolg laten OUR-metingen van dan af toe de hydrolysesnelheidskonstante te schatten. De auteurs raden wel aan deze oefening te doen voor verschillende biomassakoncentraties zodat een eventueel toch aanwezige afhankelijkheid van de hydrolysesnelheid aan de biomassakoncentratie kan vastgesteld worden.

Wentzel *et al.* (1995) werkten een schattingsprocedure uit waarbij teruggerepen wordt naar het andere experimenteel proefopzet van Kappeler & Gujer (1992) dat tot doel had de heterotrofe groeiparameters μ_H en K_S te bepalen. Het betreft hier dus een experiment met hoge S_{t0}/X_{t0} -verhouding. Hoewel geïnterpreteerd binnen het UCT-model dat licht afwijkt van de IAWQ modelstructuur, kunnen de resultaten onmiddellijk worden omgezet binnen de IAWQ nomenklatuur. Ook in deze methode worden enkele parameters gekend verondersteld, met name b_H en Y_H . De metingen die het resultaat beïnvloeden zijn vooral gelegen rond het tijdstip waar de respiratiesnelheid plots terugvalt als gevolg van de uitputting van de snel afbreekbare substraten S_S (zie Figuur 7, na 4.25 u).

Net zoals voor de kalibratie van de heterotrofe groeikinetiek geven Spanjers en Vanrolleghem (1995) de voorkeur aan een experiment met zo laag mogelijke S_{t0}/X_{t0} en vallen voor de schatting van k_H/K_X terug op een op modelaanpassing gebaseerde aanpak. Bovendien proberen ze het gebruik van ATU voor eliminatie van de nitrifikatie-OUR te vermijden. Figuur 12 geeft een respirogram weer afkomstig van een zogenaamd $\{ S_{t0}/X_{t0}=1/20 \}$ -experiment. Na de verwijdering van de in het monster aanwezige snel afbreekbare S_S in de eerste 50 minuten, vindt men de hydrolyse-"staart" terug. Met behulp van het model voor hydrolyse en heterotrofe groei kan de hydrolyse snelheidskonstante worden gevonden.



Figuur 12 Respirogram bekomen na injectie van 0.7 l afvalwater in 1.3 l actief slib (Spanjers & Vanrolleghem, 1995).

Parameters in "switching functions" $K_{O,H}$, $K_{O,A}$, K_{NO}

Kappeler & Gujer (1992) bepalen de respiratiesnelheid in functie van verschillende zuurstofconcentraties in de respiratiekamer van de door hen gebruikte respirometer. De concentratie aan snel afbreekbaar substraat S_s in de gemengde vloeistof dient volgens deze auteurs minimaal te zijn opdat een nauwkeurige bepaling van $K_{O,H}$ mogelijk zou zijn. Dezelfde techniek kan uiteraard ook aangewend worden om $K_{O,A}$ te vinden.

Zoals hoger reeds beschreven (zie schatting μ_A en K_{NH}) konden Carstensen *et al.* (1995) een schatting maken van $K_{O,A}$ uit on-line metingen van nitraat, ammonium en zuurstof in een alternerend beluchte reaktor. Op basis dezelfde metingen onder anoxische condities kon ook de afhankelijkheid van de denitrificatiesnelheid van de nitraatconcentratie worden vastgesteld.

De waarde van K_{NO} wordt verondersteld van relatief weinig invloed te zijn op de performantie van een waterzuiveringsinstallatie dat vooralsnog geen methoden werden teruggevonden voor zijn bepaling. Een gelijkaardige techniek als voor de schatting van $K_{O,H}$ lijkt echter vrij eenvoudig te implementeren.

Ammonifikatiesnelheidskonstante k_a

Voor de bepaling van k_a werd door de IAWQ Task Group voorgesteld de experimentele omstandigheden voorgesteld door Ekama *et al.* (1986) ter bepaling van de hydrolysekonstante iets te wijzigen en uit de vrijstelling van ammonium in een periode zonder voeding en bij inhibitie van de nitrificatie (bv. Met ATU) de ammonifikatiesnelheidskonstante af te leiden.

Er dient opgemerkt te worden dat men in het IAWQ model n°2 (met uitbreiding naar de fosfaatverwijdering) van het ammonifikatieconcept is afgestapt daar dit proces vrij snel verloopt en er weinig invloed is te merken in de dynamika van een waterzuiveringsproces.

Korrektiefactoren voor anoxische groei en hydrolyse η_g , η_h

Omdat 1 mg NO_3-N equivalent is met 2.86 mg O_2 en men dus alles kan uitdrukken als zuurstofequivalenten is het eenvoudig korrektiefactoren te bepalen door het volgen van nitraatrespiratie onder anoxische omstandigheden en die te vergelijken met de zuurstofrespiratie onder vergelijkbare omstandigheden. Voor η_g dient een experiment uitgevoerd in aanwezigheid van een overmaat S_s en voor de bepa-

ling van η_h is een experiment nodig waarin de groei gelimiteerd is door de hydrolyse van substraten. De korrektiefactoren worden dan:

$$\eta_g = 2.86 \frac{NUR_g}{OUR_g}; \eta_h = 2.86 \frac{NUR_h}{OUR_h}$$

De meetfrequentie van nitraatmetingen en de effecten te wijten aan de monstervoorbereiding (membraanfiltratie) maken dat de kwaliteit van de data voor karakteriseren van de heterotrofe kinetiek iets lager ligt dan de kwaliteit van zuurstofmetingen. Toch kunnen heel gedetailleerde nitraatprofielen worden opgemeten (Isaacs & Soeberg, 1994).

Kristensen *et al.* (1992) vergeleken zuurstof- en nitraatopnamesnelheden in aanwezigheid van een aantal substraten en voor actief slib van verschillende oorsprong. De uit deze metingen afgeleide groeisnelheidsverhoudingen η_g lagen tussen 0.41 en 0.73. Zowel het type slib als het type substraat bleken deze variabele te beïnvloeden. Een significant lagere groeisnelheid onder anoxische omstandigheden werd vastgesteld voor een "separate sludge" nitrifikatiesysteem ($\eta_g = 0.2$).

Dezelfde onderzoekers gingen ook de afhankelijkheid van de hydrolysesnelheid aan de elektronacceptor na. Daartoe werden experimenten uitgevoerd onder endogene condities waarbij verondersteld werd dat de snelheidsbepalende stap de hydrolyse was. Aangezien de opnamesnelheid in zuurstofequivalenten vergelijkbaar was, kwam men tot een η_h van 1. Dit werd ook vastgesteld door Mino *et al.* (1995).

Rijke informatie zoals Carstensen *et al.* (1995) vinden in de hen ter beschikking staande nitraat-, ammonium-, zuurstof- en biomassametingen laten toe om ook schattingen te maken van deze korrektiefactoren op basis van alleen data van de volschalige installatie.

Vanrollegheem & Coen (1995) geven een methode aan die toelaat het verdwijnen van nitraat uit de vloeistof terug te vinden door detectie van de 'nitraatknie' in een ORP-profiel opgemeten in een batch experiment. Aangezien mag verondersteld worden dat denitrifikatie zich nulde orde t.o.v. nitraat gedraagt tot vrij lage nitraatconcentraties, kan de denitrifikatiesnelheid redelijk goed worden afgeleid uit de tijd nodig voor het bereiken van de nitraatknie. Vergelijking met de zuurstofopnamesnelheid onder gelijkaardige experimentele omstandigheden laat dan toe de korrektiefactor voor groei te schatten.

Een gelijkaardige eindpuntdetectie werd onlangs voorgesteld door Isaacs en Henze (1994) waarbij de plotse intracellulaire accumulatie van reductie-equivalenten NADH bij gebrek aan elektronacceptor (NO_3) kan worden opgemeten dankzij de ermee gepaard gaande toename van fluorescentie door NADH.

Een methode die ook als alternatief kan gelden voor de bepaling van de denitrifikatiekinetiek is de zogenaamde acetyleenmethode. Deze bestaat erin de laatste stap in de sekwentie van reductiereacties te inhiberen waardoor N_2O akkumuleert in de vloeistof (Yoshinari & Knowles, 1976). Na uitwisseling met de gasfase kan het eenvoudig gemeten worden via gaschromatografische analyse. Hallin en Pell (1994) stelden een experimenteel protocol op voor gebruik van deze methode bij bepaling van denitrifikatiesnelheden in actief slib monsters. Gesloten flesjes met gasdicht septum worden voor een tiende gevuld met gemengde vloeistof en de headspace wordt onder stikstofatmosfeer gebracht. Acetyleen wordt geïnjecteerd tot een partiële druk van 10 kPa waarna substraten (nitraat, afvalwater, ...) via het septum ingebracht worden. De inkubatie verloopt onder intense menging teneinde de uitwisseling van het N_2O te bevorderen. Op geregelde tijdstippen worden gasmonsters uit de headspace gehaald en aan gaschromatografische analyse onderworpen. Als voordelen t.o.v. de klassieke NUR-techniek worden aangehaald (Hallin & Pell, 1994):

- volledige denitrifikatie tot stikstofgas wordt gemeten (bij NUR wordt ook partiële denitrifikatie tot nitriet gemeten)
- assimilatieve nitraatreductie en dissimilatieve omzetting van nitraat tot ammonium, hoewel beperkt in actief slib systemen, worden niet teruggevonden in het resultaat
- headspace analyse laat een eenvoudiger meting van de metabolietconcentratie toe

Toch dient volledigheidshalve opgemerkt te worden dat het meten in de gasfase ook tot problemen kan leiden, met name indien de massa-overdracht van het gasvormige produkt limiterend wordt waardoor de intrinsieke omzettingssnelheid in de vloeistoffase niet langer gemeten wordt (De heyder *et al.*, 1995). Vandaar het belang dat moet gehecht worden aan de intense menging gedurende de inkubatie van het

monster en het voldoende verdunnen van de gemengde vloeistof teneinde de volumetrische denitrificatiesnelheid niet te hoog te laten oplopen in vergelijking met de massa-overdrachtssnelheid. Hallin en Pell (1994) vergeleken beide methoden en kwamen tot identieke denitrificatiesnelheden wat aandauidt dat hun experimenteel protocol voldoende aangepast is.

EFFEKT VAN TEMPERATUUR EN pH OP BIOKINETISCHE PARAMETERS

Effekt van temperatuur

In het algemeen wordt aanvaard dat temperatuureffekten enkel terug te vinden zijn bij de kinetische parameters. Meer nog, ook de affiniteitskonstanten blijken niet gevoelig te zijn voor temperatuurwijzigingen. Veelal wordt de Arrheniusvergelijking aangewend om het temperatuureffekt te beschrijven

$$k_{T_2} = k_{T_1} \cdot e^{-\frac{\Delta G}{RT_1 T_2} (T_1 - T_2)}$$

wat veelal vereenvoudigd wordt tot

$$k_{T_2} = k_{T_1} \cdot 10^{-\alpha(T_1 - T_2)} \text{ of } k_{T_2} = k_{T_1} \cdot \theta^{-(T_1 - T_2)}$$

met θ voor de meeste processen in de buurt van 1.03 tot 1.05 (wat neerkomt op een verdubbeling van de reaktiesnelheid bij 10° temperatuurstijging). Voor nitrificatie daarentegen wordt een grotere temperatuurafhankelijkheid vastgesteld, met name $\theta = 1.15$. Meer gedetailleerde modellen voor de beschrijving van temperatuureffekten vindt men in het overzicht van Zwietering *et al.* (1991)

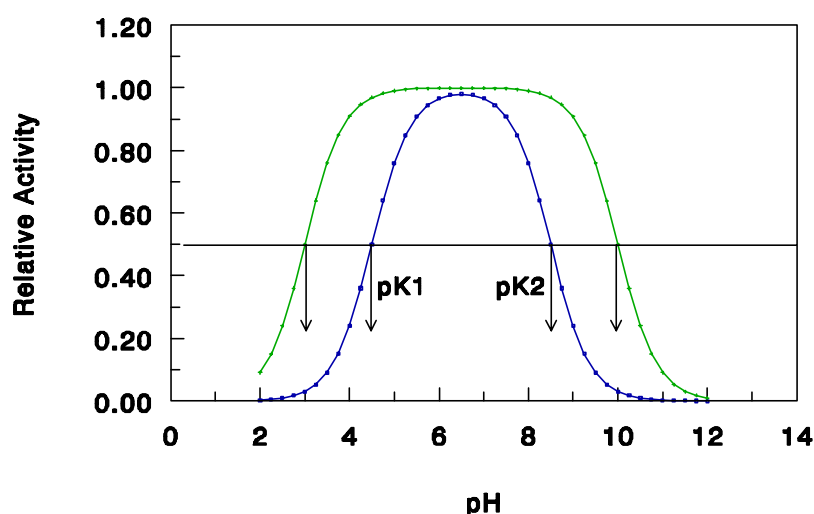
Effekt van pH

De pH beïnvloedt de biologische activiteit meestal door inhibitieverschijnselen te wijten aan niet-gedissocieerde zuren of basen (ammonium, vetzuren, nitriet) in de gemengde vloeistof. Er werden tot-nogtoe niet echt goede wiskundige beschrijvingen van deze pH-afhankelijkheid voorgesteld. Een mogelijkheid is (klokvormige afhankelijkheid van de zuurgraad):

$$k_{pH} = k_{max} \cdot \frac{1}{1 + 10^{pK_1 - pH} + 10^{pH - pK_2}}$$

waar pK_1 en pK_2 de lage en hoge zuurgraden zijn waar de activiteit op de helft terugvalt (Figuur 13).

Een tweede probleem is dat de modelbeschrijving en dus de voorspelling van de zuurgraad van de gemengde vloeistof bijna niet haalbaar blijkt door de zeer complexe chemische samenstelling van een actief slibstelsysteem. Met de voorgestelde vergelijking kan men uiteraard wel nagaan wat zou gebeuren indien de pH een vooropgestelde waarde zou aannemen.



Figuur 13 Effekt van de zuurtegraad op de biologische activiteit. Geval 1 ($pK_1=4.5$; $pK_2=8.5$) en geval 2 ($pK_1=3.0$; $pK_2=10.0$).

NIET-LINEAIRE PARAMETERSCHATTING

Parameterschatting

De problemen waarmee men geconfronteerd wordt bij de kalibratie van bioproces modellen zijn legio. Men heeft te maken met beperkte data sets, niet normaal verdeelde meetfouten en, vooral, niet-lineaire modellen. Robinson (1985) geeft een heel goede inleiding tot deze problematiek. Hij brengt bovendien op een heel toegankelijke wijze verschillende concepten en technieken aan rond parameterschatting, diagnose van het kalibratieresultaat en experimenteel ontwerp. Hier worden er enkele facetten van niet-lineaire parameterschatting en optimaal experimenteel ontwerp uitgelicht.

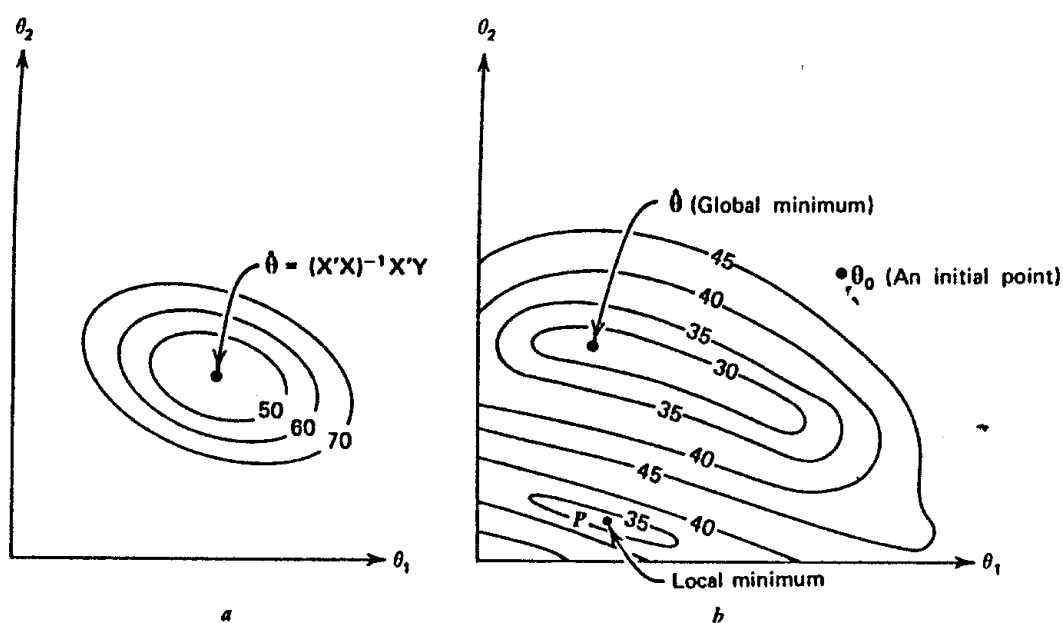
Parameterschatting heeft tot doel een set parameters θ te vinden waarvoor een model aan een bepaald objectief voldoet. Bij modelkalibratie bijvoorbeeld kan het de bedoeling zijn de som van kwadratische afwijkingen tussen gemeten variabelen en modelvoorspellingen te minimaliseren:

$$J(\theta) = \sum_{i=1}^{N_{\text{meet}}} (Y(t_i) - \hat{Y}(t_i))^2$$

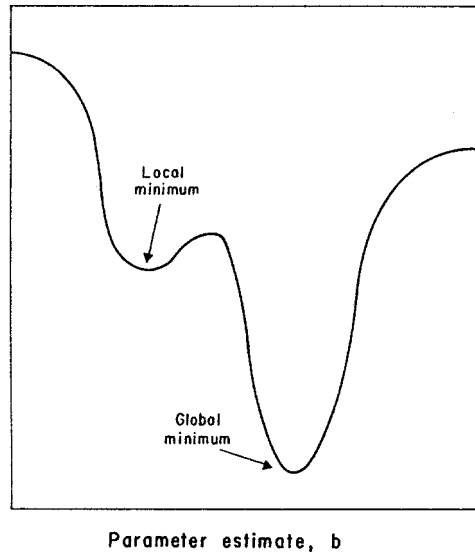
Bepaalde beperkingen aan de parametersets kunnen bij de zoektocht naar de juiste parameterset worden opgelegd (bv. de affiniteitskonstanten moeten groter zijn dan 0 of alleen parameterwaarden die binnen het bereik van de waarden opgegeven in het IAWQ model nr 1 rapport worden aanvaard). Dit zijn uiteraard keuzes van de gebruiker.

De hele problematiek bestaat er nu in op efficiënte manier te komen tot schattingen van θ . In het geval van lineaire modellen en een kwadratische doelfunctie, is het probleem heel eenvoudig. Men kan dan de optimale parameterset in één rekenslag vinden. Dit is het gevolg van het feit dat de oplossing analytisch kan gevonden worden.

In het licht van de problemen die optreden bij niet-lineaire parameterschatting geven we hier even de vorm aan van de kwadratische doelfunctie voor het geval 2 lineair in het model voorkomende parameters θ_1 en θ_2 dienen geschat te worden. Het is eenvoudig aan te tonen dat de doelfunctie een mooi paraboloïde vorm heeft. In Figuur 14 (links) wordt een contourplot ("landkaart") van de kwadratensom voor een dergelijk lineair probleem weergegeven. Een paar eigenschappen verdienen vermelding. De lijnen met constante kwadratensom zijn steeds ellipsvormig en er is slechts één plaats in de parameterruimte waarvoor de helling van de doelfunctie nul wordt. Dit is de plaats van de minimale som van kwadratische afwijkingen. De bepaling van de parameterset kan bijgevolg gebaseerd worden op het vinden van de plaats waar de helling nul wordt. Dit is de basis van de hoger vermelde analytische oplossing.



Figuur 14 Contourplots voor de doelfunctie voor een lineair (links) en een niet-lineair (rechts) parameterschattingsprobleem



Figuur 15 Problematiek van lokale minima bij niet-lineaire parameterschatting

In het geval van een model dat niet-lineair is in de parameters, wordt dergelijke contourplot heel wat onregelmatiger (Figuur 14 rechts). Enerzijds is de paraboloidvorm verloren gegaan en zijn de bijhorende ellipsvormige contourlijnen verdwenen en, anderzijds, stelt men vast dat de helling van de doelfunctie nu op verschillende plaatsen nul kan worden. Dit wordt beter geïllustreerd in Figuur 15 waar het verloop van de doelfunctie wordt weergegeven voor de doorsnede door het kostenoppervlak in Figuur 14 aangegeven met de dikke lijn.

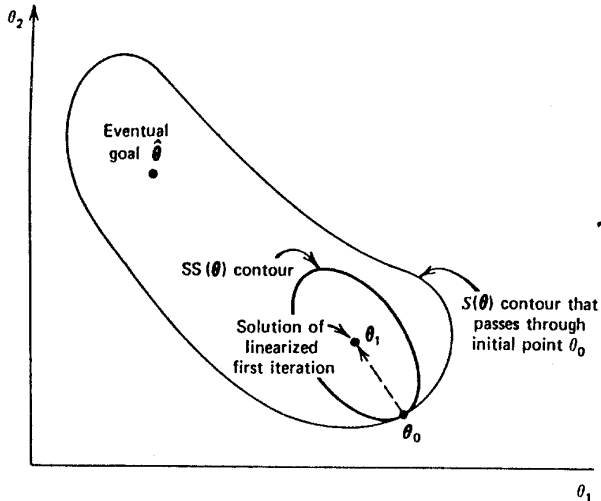
De kern van het probleem wordt nu aangekaart: Indien een algoritme voor parameterschatting wordt gebruikt dat zich baseert op het vinden van de plaats waar de helling in de kwadratensom nul wordt, dan is het duidelijk dat het voorbeeld van Figuur 15 kan leiden tot twee verschillende oplossingen. Deze oplossingen worden lokale minima genoemd indien ze niet overeenstemmen met het echte "globale" minimum van de doelfunctie.

Laat ons de werking van een zoekalgoritme voor parameterschatting plastisch voorstellen en het beschrijven aan de hand van het equivalent voorbeeld van een pingpong-balletje dat vanop de heuvel (van de kwadratensom) wordt losgelaten en gravitair zijn weg moet zoeken naar de laagste plaats in het oppervlak. Indien we Figuur 15 als basis nemen, dan zien we dat er kans bestaat dat het balletje blijft "hangen" in het lokaal minimum indien we van links vertrekken, terwijl we wellicht het globale minimum zullen vinden indien het balletje rechts wordt gelegd bij de start van de zoektocht (merk op dat het zelfs in dat geval nog steeds mogelijk is dat het pingpong-balletje in het lokale minimum terechtkomt als het een overshoot maakt). Opnieuw komt hiermee een kenmerk van niet-lineaire parameterschatting aan het licht: afhankelijk van de waarden die men aan de parameters geeft bij de start van de zoektocht, kan men tot andere eindresultaten komen.

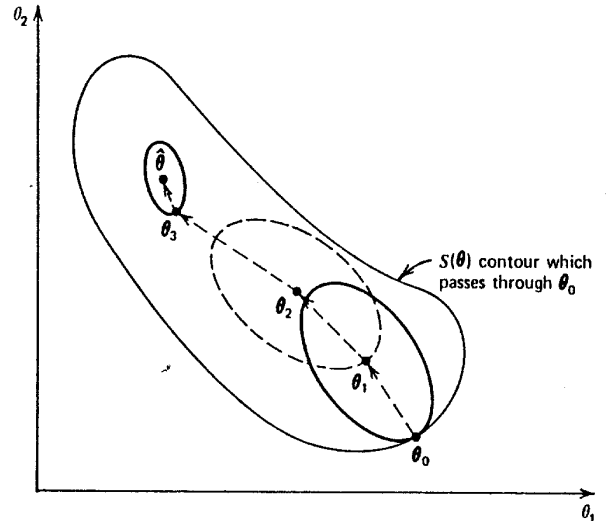
De kracht van zoekalgoritmen gebruikt voor het oplossen van niet-lineaire parameterschattingsproblemen wordt voor een groot deel bepaald door twee kenmerken: (i) Snelheid van convergentie, i.e. hoeveel keer moet de som van kwadratische afwijkingen tussen metingen en modelvoorspellingen berekend worden vooraleer een minimum wordt bereikt en (ii) hoe robuust is het onderliggende algoritme tegenover lokale minima of in andere woorden, hoe groot is de kans dat de zoektocht blijft hangen in een lokaal minimum. In de hierna volgende tekst worden enkele zoekalgoritmen besproken in deze kontekst. De resultaten van de evaluatie werden geput uit de studie van Vanrolleghem en Keesman (1995).

Algoritmen voor niet-lineaire parameterschatting

De meest gebruikte methoden worden hieronder kort besproken en geïllustreerd. Een eerste belangrijk algoritme wordt geïllustreerd in Figures 16 en 17. Met een initiële parameterschatting θ_0 wordt een lineaire benadering van het parameterschattingsprobleem berekend (de ellips in de figuur), waarna de oplossing van het lineair stelsel wordt doorgerekend. Deze nieuwe schatting van de parameterset θ_1 wordt nu op zijn beurt gebruikt voor de volgende stap in de zoektocht en men gaat zo door tot er geen verbetering in de kwadratenom wordt gevonden. Deze techniek wordt gekenmerkt door een snelle convergentie, maar wordt geplaagd door een grote gevoeligheid aan lokale minima. Onze ervaring heeft geleerd dat de methode bijna onbruikbaar is.

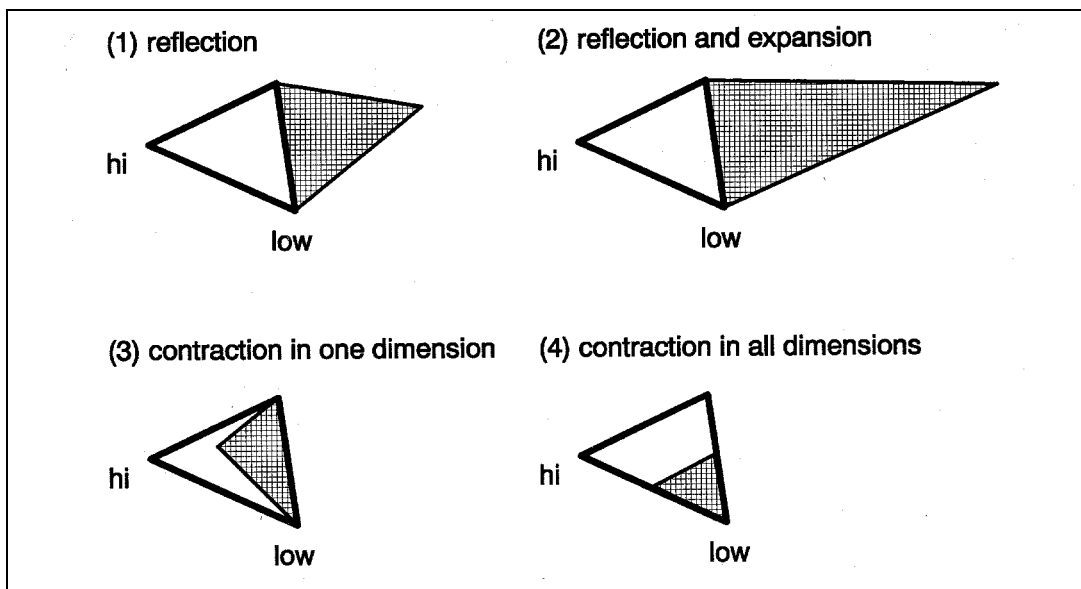


Figuur 16 Lineaire benadering van het parameterschattingsprobleem: eerste stap vanaf de initiële parameterwaarde

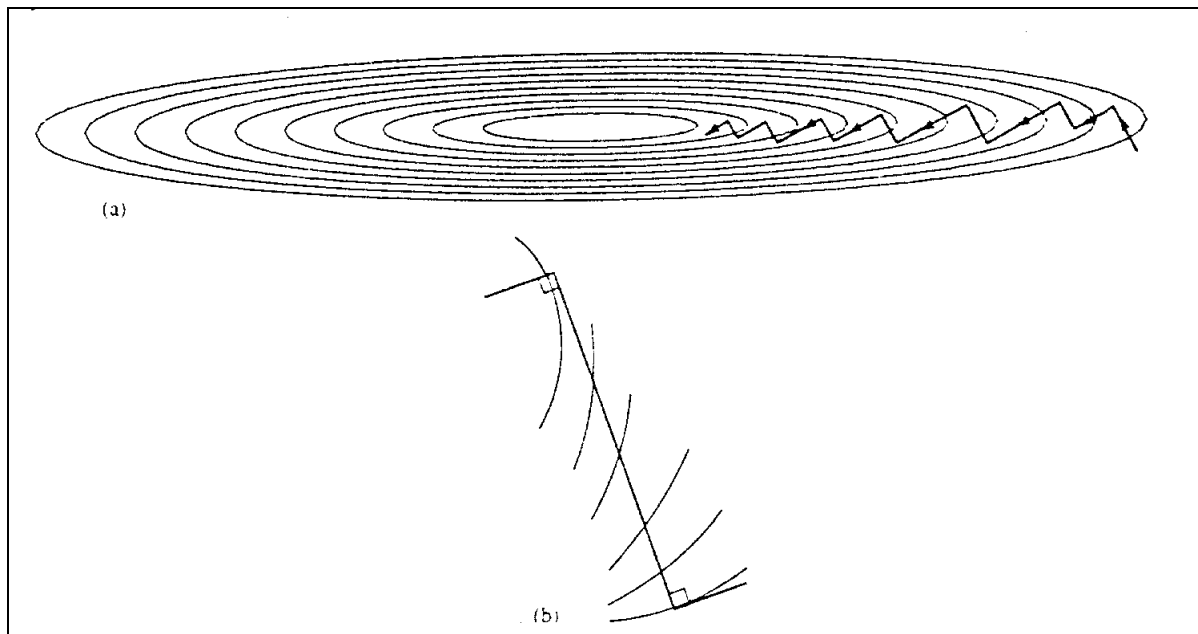


Figuur 17 Lineaire benadering: convergentie naar het optimum

Een heel eenvoudig te implementeren en daarom waarschijnlijk ook veel gebruikt algoritme voor parameterschatting is het zogenaamde Simplex algoritme. Het convergeert niet echt snel naar de juiste oplossing maar is wel vrij robuust tegen lokale minima. Het algoritme werkt op basis van 4 mogelijke overgangen geïllustreerd in Figuur 18. De erin voorgestelde driehoeken zijn de voorstelling van de "simplex" in het geval er twee parameters te schatten zijn.



Figuur 18 De vier mogelijke overgangen in het Simplex algoritme



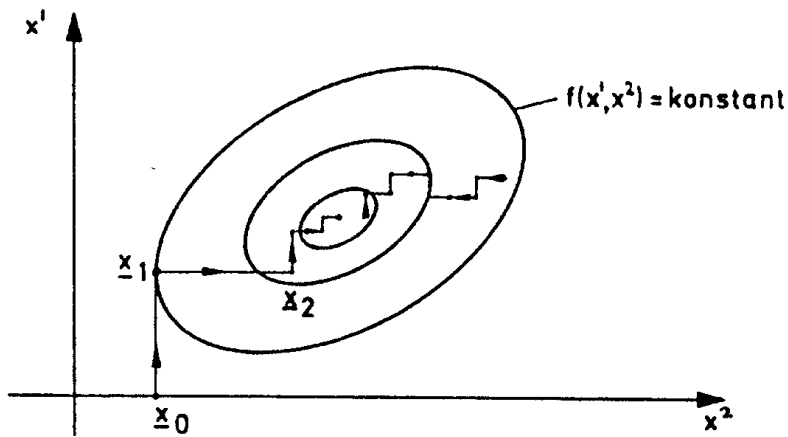
Figuur 19 Steepest Decent methode: het "valleiprobleem" met een maximaal aantal zoekstappen. Onder is een uitvergroting te zien van de zoekrichtingen en de tussensultaten.

Elk hoekpunt stelt een parameterkombinatie voor met de erbij horende waarde van de kwadratensom. Telkens wordt het punt met de hoogste kwadratensom vervangen door een nieuwe parameterkombinatie. De overgang van de open simplex naar de gearceerde simplex via één van de in Figuur 18 gegeven overgangen wordt bepaald door de waarden van de verschillende kwadratensommen.

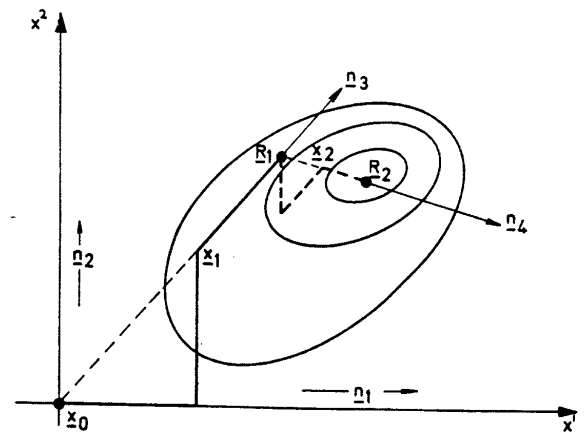
In Figuur 19 wordt een ook vrij algemeen zoekalgoritme, het "steepest decent" algoritme, getoond. Hier is het basisprincipe dat elke stap van de zoektocht gebeurt in de richting van de grootste neerwaartse helling tot het punt waar geen verbetering meer mogelijk is. In dit nieuw punt wordt opnieuw de richting van de grootste helling bepaald en wordt een volgende stap gezet. In sommige gevallen kan dit heel leiden tot heel inefficiënte zoektochten zoals bij het "valleiprobleem" voorgesteld in Figuur 19: De zoektocht springt van links naar rechts in de vallei, terwijl het veel efficiënter zou zijn in de richting van de vallei zelf vooruit te gaan.

De methoden gebaseerd op een set van zoekrichtingen (Direction Set) zijn nog niet zo veel gebruikt, maar blijken wel heel nuttig bij het schatten van parameters onder moeilijke omstandigheden. Hun robuustheid is evenwaardig met die van het simplex-algoritme maar de convergentiesnelheid ligt een stuk hoger. In zijn meest simpele en vrij trage vorm (Figuur 20) bestaat de set zoekrichtingen uit de eenheidsvektoren, i.e. men zoekt in de richting van de assen van de parameterruimte of in andere woorden, men gaat parameter per parameter wijzigen. Telkens wanneer in een nieuwe richting gezocht wordt, gaat men de parameterset zoeken die in die richting de minimale waarde voor de kwadratensom heeft.

In de methode van Brent (1973) -waarvan wij grote voorstander zijn- wordt de set zoekrichtingen variabel gemaakt en gaat men steeds een set samenstellen die de meest efficiënte zoektocht zal mogelijk maken. Aangezien het vrij aannemelijk is dat een richting waarlangs men reeds gezocht heeft bij verdere zoektochten langs deze richting weinig verbetering zal brengen, wordt deze richting door het algoritme uit de set gelicht en vervangen door een zogenaamde gekonjugeerde richting die garant staat voor efficiënt vooruitgang van het algoritme. In Figuur 21 wordt het algoritme voor verandering van de set zoekrichtingen geïllustreerd en het effect ervan op de zoektocht. Men start vanuit parameterset x_0 en zoekt volgens de set richtingen n_1 en n_2 (zoals in de eenvoudige methode van Figuur 20). Nadat beide richtingen doorlopen zijn, wordt de eerste zoekrichting n_1 vervangen door een nieuwe richting n_3 die gekonjugeerd is met de twee voorgaande. Opnieuw worden 2 zoekacties doorlopen langs deze nieuwe richtingen, waarna nu n_2 wordt vervangen door n_4 . Het algoritme gaat zo verder tot de beste parameterset is gevonden. Uit de evaluatie van Vanrolleghem en Keesman (1995) bleek dit algoritme het meest performante voor het type modellen dat werd onderzocht.



Figuur 20 Set van zoekrichtingen blijft bestaan uit de eenheidsvectoren



Figuur 21 Brent (1973) zoekalgoritme met gekonjugeerde richtingen

Een compleet ander type zoekalgoritme zijn de zogenaamde random of exhaustive search methoden die de doelfunctie voor een groot aantal random gekozen parameterkombinaties berekenen en de beste parameterset bekomen na N evaluaties weerhouden. Dergelijke algoritmen zijn helemaal niet inefficiënt, konvergeert dus traag, maar zijn eenvoudig te implementeren en hebben geen last van lokale minima daar niet gekeken wordt naar de helling van de doelfunctie voor het beëindigen van de zoektocht.

Optimaal Experimenteel Ontwerp

Om te eindigen wordt nog wat ingegaan op de belangrijke problematiek van optimaal experimenteel ontwerp. Dit zal zeker nog aan belang winnen naarmate men steeds meer informatie wil halen uit steeds minder experimenten. Optimaal experimenteel ontwerp heeft veel te maken met theoretische en praktische identificeerbaarheid van parameters (Dochain *et al.*, 1995; Vanrolleghem *et al.*, 1995). De vraag moet immers gesteld worden of (i) de parameters überhaupt kunnen geschat worden (zelfs met de best mogelijke waarnemingen) -dit is de theoretische identificeerbaarheid- en (ii) indien ze dan geschat kunnen worden of dat wel met voldoende betrouwbaarheid kan gebeuren -dit is de praktische identificeerbaarheid. Voor de theoretische achtergronden verwijzen we graag naar de publikaties van Dochain *et al.* (1995) rond de theoretische identificeerbaarheid en van Vanrolleghem *et al.* (1995) rond de praktische identificeerbaarheid van parameters in actief slib modellen. In dit deel willen we ons beperken tot een illustratie van wat mogelijk is mits gebruik van dergelijke technieken.

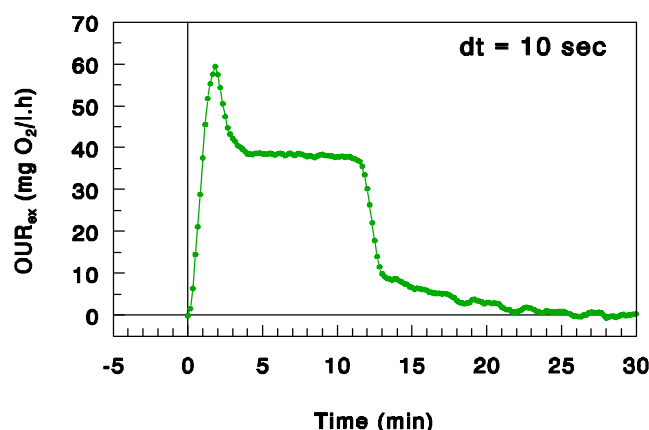
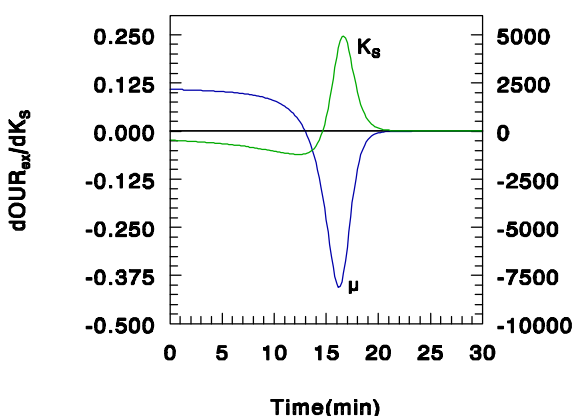
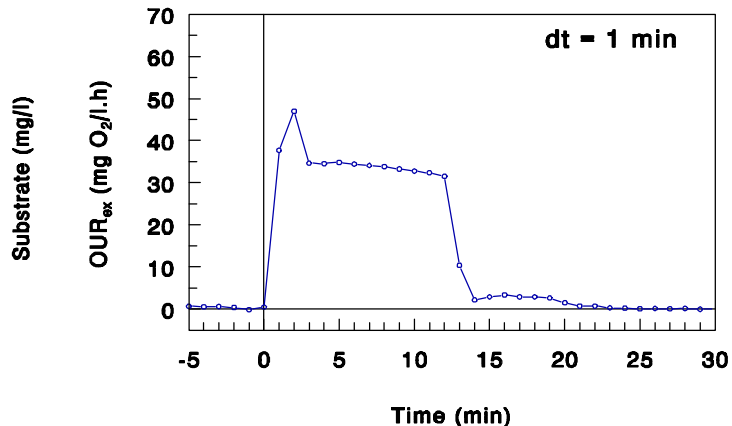
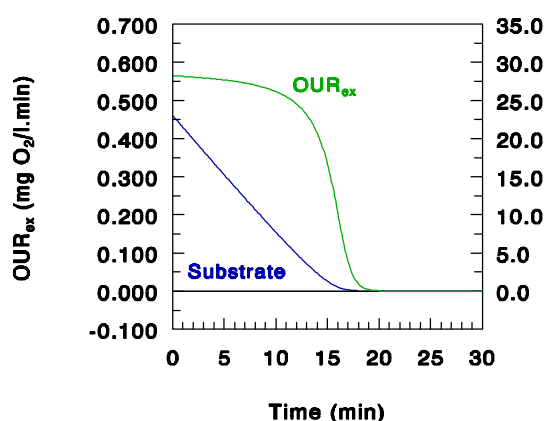
De basis van het experimenteel ontwerp is de bij de inleiding reeds naar voor gebrachte sensitiviteitsanalyse. Uitgaande van het onderzochte mathematisch model en een schatting van zijn parameters kunnen de sensitiviteitsfuncties opgesteld worden. In deze functies wordt de gevoeligheid van de modelvoorspellingen van variabelen voor parameterwijzigingen beschreven. Het moet duidelijk zijn dat informatie kan gevonden worden nopens een parameter indien de gemeten variabele gevoelig is voor de parameterwaarde.

In Figuur 22 wordt een eenvoudig respirogram bekomen in een batch-experiment met één substraat getoond (boven) en de erbij horende sensitiviteitsfuncties (onder) voor de beide parameters die in het aangewende Monod-model voorkomen: K_s en μ_H . Men stelt vast dat de informatie betreffende de affiniteitskonstante vooral te vinden is op het moment dat de zuurstofopnamesnelheid terugvalt. Dit is logisch want men stelt vast uit de ook weergegeven evolutie van het substraatconcentratie dat deze op dat moment in de buurt ligt van de affiniteitskonstante.

Dit resultaat kan nu aangewend worden bij optimaal experimenteel ontwerp. We herhalen hier de vragen die door een optimaal experimenteel ontwerp beantwoord kunnen worden.

- welke variabele(n) moeten gemeten worden ?
- waar moet de meetapparatuur opgesteld ?
- wanneer en hoe frequent dient men te meten ?
- onder welke omstandigheden verzamelt men data (in situ-, lab- of in-sensor-experimenten) ?

Hierna volgen voorbeelden van antwoorden op de beide laatste vragen.

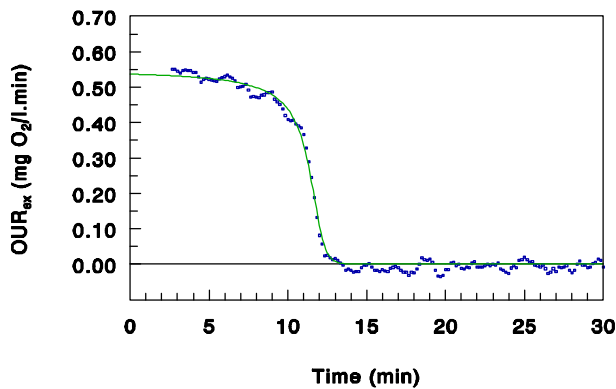


Figuur 22 Evolutie van substraat en OUR_{ex} (boven) en de bijhorende sensitiviteitsfuncties voor de groeikinetiekparameters (onder) in een batchexperiment

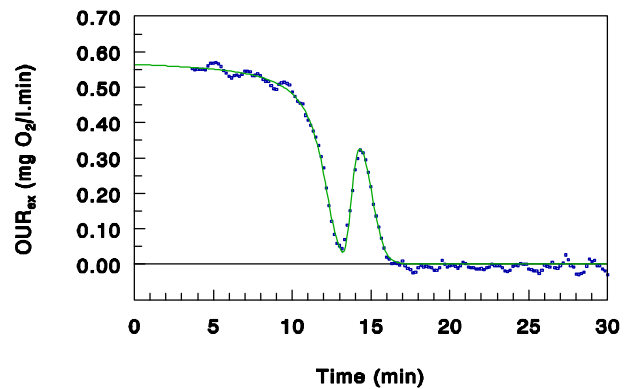
Figuur 23 Respirogrammen voor eenzelfde slib/afvalwater combinatie maar gemeten met verschillende meetfrequentie ($dt =$ meetinterval)

Wanneer de vraag zich stelt wanneer men een hoge meetfrequentie benodigd, dan volgt de vraag vrij duidelijk uit de sensitiviteitsanalyse. Voor experimenten getoond in Figuur 22 moeten voldoende meetgegevens verzameld worden op het moment dat de respiratiesnelheid afneemt. In Figuur 23 wordt getoond dat de keuze van het respirometrisch meetprincipe door dergelijke analyse ondersteund kan worden. Met de ene respirometer met meetinterval van 1 minuut wordt eigenlijk slechts één meetwaarde verzameld die informatie bevat over de affiniteitsconstante van het slib; bij het andere meetprincipe worden ongeveer 10 meetpunten verzameld (Vanrolleghem & Spanjers, 1994).

Een ander voorbeeld dat het nut van sensitiviteitsanalyse illustreert werd door Vanrolleghem *et al.* (1995) uitgewerkt. Het gaat om het ontwerp van een batch-experiment waarbij men de mogelijkheid heeft een bijkomende hoeveelheid substraat toe te dienen. De vraag waarop het optimaal experimenteel ontwerp algoritme antwoord moet geven is het tijdstip waarop de toediening optimaal gebeurt. In de Figuren 24 en 25 worden experimentele data vergeleken uit een batch-experiment zonder extra toediening en een experiment waarin op het door het experimenteel ontwerp berekende tijdstip (14.1 minuut) extra substraat wordt gedoseerd. Ten eerste kan men vaststellen dat het model ook dit soort experiment goed kan beschrijven. Ten tweede kon uit de schatting van de betrouwbaarheid van de bekomen parameters aangetoond worden dat de variantie gehalveerd werd door het optimaal experimenteel ontwerp. Dit kan opnieuw afgeleid worden uit de sensitiviteitsanalyse omdat het injecteren van bijkomend substraat maakt dat de substraatconcentratie opnieuw wordt opgedreven tot boven de waarde van de affiniteitsconstante waardoor de OUR-data eigenlijk tweemaal informatie kunnen leveren over deze parameter.



Figuur 24 Respirogram bekomen na alleen initiële substraatinjectie.



Figuur 25 Respirogram bekomen na initiële substraat injectie en een extra substraatpuls na 14 minuten.

KONKLUSIES

In dit niet-exhaustief overzicht passeerden een hele batterij methoden en technieken voor schatting van biokinetische karakteristieken de revue. Uit dit overzicht is het vrij duidelijk dat nog geen standaardizatie is uitgevoerd en dat hier nood aan is. Op dit moment heeft de gebruiker nog te veel keuzemogelijkheden die maken dat hij zich onzeker gaat voelen.

Uit het overzicht blijkt ook dat voor respirometrie een heel belangrijke taak ligt weggelegd bij de kalibratie van het IAWQ model nr 1.

Een belangrijke taak voor de toekomst spruit voort uit de vaststelling dat men nu teruggrijpt naar een proefopzet waarbij 1 experiment wordt uitgevoerd voor de bepaling van 1 enkele parameter. het is onze mening dat er moet gezocht worden naar een beperkt aantal experimenten die toelaten groepen parameters te bepalen.

De vraag of men bij de parameterschatting moet gaan naar een multiresponse kalibratie dan wel moet blijven gebruik maken van sequentiële schatting blijft ook nog open.

LITERATUUR

- Brands E., Liebeskind M. and Dohmann M. (1994) Parameters for dynamic simulation of wastewater treatment plants with high- rate and low-rate activated sludge tanks. *Wat. Sci. Tech.*, 30(4), 211-214.
- Brent R.P. (1973) *Algorithms for Minimization without Derivatives*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey. pp. 195.
- Carstensen J., Harremoës P. and Madsen H. (1995) Statistical identification of Monod-kinetic parameters from on-line measurements. *Wat. Sci. Tech.*, 31(2), 125-133.
- Chudoba J., Cech J.S., Farkac J. and Grau P. (1985) Control of activated sludge filamentous bulking. Experimental verification of a kinetic selection theory. *Wat. Res.*, 19, 191-196.
- Chudoba P., Capdeville B. and Chudoba J. (1992) Explanation of biological meaning of the S_o/X_o ration in batch cultivation. *Wat. Sci. Tech.*, 26, 743-751.
- De heyder B., Vanrolleghem P.A., Van Langenhove H. and Verstraete W. (1995) Kinetic characterization of microbial degradation of gaseous compounds in batch experiments under mass transfer limited conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* (Submitted)
- Dochain D., Vanrolleghem P.A. and Van Daele M. (1995) Structural identifiability of biokinetic models of activated sludge respiration. *Wat. Res.*, 29, 2571-2579.
- Drtil M., Nemeth P. and Bodik I. (1993) Kinetic constants of nitrification. *Wat. Res.*, 27, 35-39.
- Dupont R. and Sinkjaer O. (1994) Optimisation of wastewater treatment plants by means of computer models. *Wat. Sci. Tech.*, 30(4), 181-190.
- Ekama G.A., Dold P.L. and Marais G.v.R. (1986) Procedures for determining influent COD fractions and the maximum specific growth rate of heterotrophs in activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.*, 18, 91-114.
- Hallin S. and Pell M. (1994) Acetylene inhibition for measuring denitrification rates in activated sludge. *Wat. Sci. Tech.*, 30(6), 161-167.

- Henze M., Grady C.P.L.Jr., Gujer W., Marais G.V.R. and Matsuo T. (1987) Activated Sludge Model No. 1. IAWPRC Scientific and Technical Reports No. 1. London, UK.
- Isaacs S. and Henze M. (1994) Fluorescence monitoring of an alternating activated sludge process. *Wat. Sci. Tech.*, 30(4), 229-238.
- Isaacs S. and Soeberg H. (1994) Flow injection analysis for on-line monitoring of a waste water treatment plant. In: *Advanced Instrumentation, Data Interpretation and Control of Biotechnological Processes*. Eds. Van Impe J., Vanrolleghem P. & Iserentant D., Kluwer, London.
- Johnson D.B. and Berthouex P.M. (1975) Using multiresponse data to estimate biokinetic parameters. *Biotechnol. Bioeng.*, 17, 571-583.
- Kappeler J. and Gujer W. (1992) Estimation of kinetic parameters of heterotrophic biomass under aerobic conditions and characterization of wastewater for activated sludge modelling. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 125-139.
- Kong Z., Vanrolleghem P.A. and Verstraete W. (1994) Automated respiration inhibition kinetics analysis (ARIKA) with a respirographic biosensor. *Wat. Sci. Tech.*, 30(4), 275-284.
- Kristensen G.H., Jorgensen P.E. and Henze M. (1992) Characterization of functional microorganism groups and substrate in activated sludge and wastewater by AUR, NUR and OUR. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 43-57.
- Larrea L., Garcia-Heras J.L., Ayesa E. and Florez J. (1992) Designing experiments to determine the coefficients of activated sludge models by identification algorithms. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 149-165.
- Lesouef A., Payraudeau M., Rogalla F. and Kleiber B. (1992) Optimizing nitrogen removal reactor configurations by on-site calibration of the IAWPRC activated sludge model. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 105-123.
- Lishman L.A. and Murphy K.L. (1994) The significance of hydrolysis in microbial death and decay. *Wat. Res.*, 28, 2417-2419.
- Lokkegaard Bjerre H., Hvitved-Jacobsen T., Teichgräber B. and te Heesen D. (1995) Experimental procedures characterizing transformations of wastewater organic matter in the Emscher river, Germany. *Wat. Sci. Tech.*, 31(7), 201-212.
- Marais G.v.R. and Ekama G.A. (1976) The activated sludge process. Part 1 - Steady state behaviour. *Water SA*, 2, 163-199.
- Mino T., San Pedro D.C. and Matsuo T. (1995) Estimation of the rate of slowly biodegradable COD (sbCOD) hydrolysis under anaerobic, anoxic and aerobic conditions by experiments using starch as model substrate. *Wat. Sci. Tech.*, 31(2), 95-103.
- Novak L., Larrea L. and Wanner J. (1994) Estimation of maximum specific growth rate of heterotrophic and autotrophic biomass: A combined technique of mathematical modelling and batch cultivations. *Wat. Sci. Tech.*, 30(11), 171-180.
- Nowak O., Schweighofer P. and Svardal K. (1994) Nitrification inhibition - A method for the estimation of actual maximum growth rates in activated sludge systems. *Wat. Sci. Tech.*, 30(6), 9-19.
- Pedersen J. and Sinkjaer O. (1992) Test of the activated sludge model's capabilities as a prognostic tool on a pilot scale wastewater treatment plant. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 185-194.
- Robinson J.A. (1985) Determining microbial parameters using nonlinear regression analysis: Advantages and limitations in microbial ecology. *Adv. Microb. Ecol.*, 8, 61-114.
- Roeleveld P.J. (1995) Methoden voor influentkarakterisering. In: *Proceedings NVA Symposium Modelleren van Aktiefslib-processen: Ervaringen, Ontwikkelingen en Valkuilen*. Utrecht, Netherlands, November 17 1995.
- Siegrist H. and Tschui M. (1992) Interpretation of experimental data with regard to the activated sludge model no. 1 and calibration of the model for municipal wastewater treatment plants. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 167-183.
- Slade A.H. and Dare P.H. (1993) Measuring maximum specific growth rate and half saturation coefficient for activated sludge systems using a freeze concentration technique. *Wat. Res.*, 27, 1793-1795.
- Sollfrank U. and Gujer W. (1991) Characterisation of domestic wastewater for mathematical modelling of the activated sludge process. *Wat. Sci. Tech.*, 23(4-6), 1057-1066.
- Spanjers H. and Vanrolleghem P.A. (1995) Application of a hybrid respirometric technique to an industrial wastewater. In: *Proceedings 50th Purdue Industrial Waste Conference*. Lewis Publ., Chelsea, Michigan. (in Press).
- Stokes L., Takacs I., Watson B. and Watts J.B. (1993) Dynamic modelling of an A.S.P. sewage works - A case study. *Wat. Sci. Tech.*, 28(11-12), 151-161.
- van Loosdrecht M.C.M. (1995) Inleiding tot het modelleren. In: *Proceedings NVA Symposium Modelleren van Aktiefslib-processen: Ervaringen, Ontwikkelingen en Valkuilen*. Utrecht, Netherlands, November 17 1995.
- Vanrolleghem P.A. and Coen F. (1995) Optimal design of in-sensor-experiments for on-line modelling of nitrogen removal processes. *Wat. Sci. Tech.*, 31(2), 149-160.
- Vanrolleghem P.A. and Keesman K.J. (1995) Identification of biodegradation models under model and data uncertainty. In: *Uncertainty, Risk and Transient Pollution Events. Acute Risks to the Aquatic Environment*. Exeter, UK, July 26-28 1995. (in Press).
- Vanrolleghem P.A. and Spanjers H. (1994) Comparison of two respirometric principles for the determination of short-term biochemical oxygen demand. In: *Proceedings 49th Purdue Industrial Waste Conference*. Lewis Publ., Chelsea, Michigan. 177-188.
- Vanrolleghem P.A. and Van Daele M. (1994) Optimal experimental design for structure characterization of biodegradation models: On-line implementation in a respirographic biosensor. *Wat. Sci. Tech.*, 30(4), 243-253.
- Vanrolleghem P.A. and Verstraete W. (1993) Simultaneous biokinetic characterization of heterotrophic and nitrifying populations of activated sludge with an on-line respirographic biosensor. *Wat. Sci. Tech.*, 28(11-12), 377-387.

- Vanrolleghem P.A., Van Daele M. and Dochain D. (1995) Practical identifiability of a biokinetic model of activated sludge respiration. *Wat. Res.*, 29, 2561-2570.
- Vanrolleghem P.A., Van Impe J.F., Vandewalle J. and Verstraete W. (1992) Advanced monitoring and control of the activated sludge process: On-line estimation of crucial biological variables in a structured model with the RODTOX biosensor. In: *Modeling and Control of Biotechnical Processes*. Eds. Karim M.N. and Stephanopoulos G., Pergamon Press, Oxford. 355-358.
- Wanner O., Kappeler J. and Gujer W. (1992) Calibration of an activated sludge model based on human expertise and on a mathematical optimization technique - A comparison. *Wat. Sci. Tech.*, 25(6), 141-148.
- Weijers S.R. (1995) Calibratie van het IAWQ Model No. 1. In: *Proceedings NVA Symposium Modelling van Aktiefslib-processen: Ervaringen, Ontwikkelingen en Valkuilen*. Utrecht, Netherlands, November 17
- Wentzel M.C., Mbewe A. and Ekama G.A. (1995) Batch test for measurement of readily biodegradable COD and active organism concentrations in municipal waste waters. *Water SA*, 21, 117-124.
- Yoshinari T. and Knowles R. (1976) Acetylene inhibition of nitrous oxide reduction by denitrifying bacteria. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 69, 705-710.
- Zwietering M.H., De Koos J.T., Hasenack B.E., De Wit J.C. and Van 'T Riet K. (1991) Modelling of bacterial growth as a function of temperature. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1094-1101.