

MODÉLISATION DE LA PRODUCTION DE PROTOXYDE D'AZOTE PENDANT LES PROCESSUS DE NITRIFICATION / DÉNITRIFICATION : APPLICATION À UN RÉACTEUR GRANULAIRE AÉROBIE.

Mathieu POCQUET^(1,2,3,4,5), Ahlem FILALI^(1,2,3), Yolaine BESSIERE^(1,2,3), Lisha GUO⁽⁴⁾, Isabelle QUEINNEC⁽⁵⁾,
Peter A. VANROLLEGHEM⁽⁴⁾, Mathieu SPERANDIO*^(1,2,3)

⁽¹⁾ Université de Toulouse; INSA, UPS, INP; LISBP, 135 Avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse, France

⁽²⁾ INRA, UMR792 Ingénierie des Systèmes Biologiques et des Procédés, F-31400 Toulouse, France

⁽³⁾ CNRS, UMR5504, F-31400 Toulouse, France

⁽⁴⁾ modelEAU, Université Laval, Département de génie civil et de génie des eaux, 1065 av. de la Médecine, Québec (QC), G1V 0A6, Canada.

⁽⁵⁾ CNRS ; LAAS ; 7 avenue du colonel Roche, F-31077 Toulouse Cedex 4, France

Contexte. Le protoxyde d'azote ou N_2O est le troisième gaz à effet de serre le plus émis au niveau mondial après le CO_2 et le CH_4 (année 2004, source : GIEC). Ce puissant gaz à effet de serre (pouvoir de réchauffement global 300 fois plus important que le dioxyde de carbone) est principalement émis par les sols et océans. Ses sources anthropiques sont nombreuses et il est émis durant le traitement des eaux usées par les processus de nitrification / dénitrification (Kampschreur et al., 2009). Les bactéries hétérotrophes et autotrophes, qu'elles soient sous forme agglomérée (Lemaire et al., 2006; Quan et al., 2012), ou libres dans la phase liquide (Kampschreur et al., 2009; Tallec et al., 2006a), sont responsables de ces émissions. Afin de contrôler et minimiser cette production de N_2O , la modélisation couplée à des expérimentations est une approche performante. Dans ce contexte, des études menées au LISBP ont permis de mettre en évidence une production de N_2O pendant le fonctionnement d'un réacteur à boue granulaire développée en conditions aérobies (GSBR). Dans ce réacteur, l'alternance de phases anoxie/aérobie permet d'éliminer l'azote par nitrification/dénitrification via les bactéries autotrophes et hétérotrophes présentes sous formes de floccs et de granules (boue hybride). Afin de modéliser ce procédé, une étude préliminaire a été réalisée afin de déterminer le modèle de nitrification le mieux adapté au cas d'étude. Un modèle a ensuite été développé pour décrire l'évolution dynamique des espèces azotées dans la phase liquide ($N-NH_4^+$, $N-NO_2^-$, $N-NO_3^-$) et dans la phase gazeuse ($N-N_2O$) pendant le fonctionnement du GSBR.

Etude préliminaire des modèles de nitrification et de production de N_2O . Il existe aujourd'hui plusieurs modèles pour décrire la nitrification et la production de N_2O par les bactéries ammonium-oxydantes (AOB). Le modèle de Mampaey et al. (2011) décrit la dénitrification autotrophe qui a lieu pendant l'oxydation de l'ammonium par les bactéries AOB. Sur les six électrons libérés durant cette oxydation, deux sont utilisés par ces mêmes bactéries pour réduire les nitrites en NO puis en N_2O . La stœchiométrie et les cinétiques de ces processus sont présentées dans le tableau 1. Nous avons intégré au modèle original le terme « η_{AOB} » qui n'était pas inclus par l'auteur et qui correspond au facteur de réduction de l'activité spécifique des bactéries AOB lors de la réduction des nitrites. Ce terme a été appliqué aux deux vitesses de réaction (M3 et M4) dans un premier temps (on appellera ce cas : Mampaey1), puis uniquement au processus M3 dans un deuxième temps (appelé Mampaey2). Le modèle de Ni et al. (2011) propose une oxydation de l'ammonium vers les nitrites via l'hydroxylamine. Deux électrons libérés lors de l'oxydation de l'hydroxylamine sont utilisés par les bactéries AOB pour réduire les nitrites en NO puis en N_2O lorsque l'oxygène est limitant (terme d'inhibition par l'oxygène). Le troisième modèle considéré est celui de Houweling et al. (2011). Ce modèle prend en compte la croissance des AOB et NOB (bactéries nitrite-oxydante) et la production de N_2O via une fonction empirique. Cette fonction mathématique relie le flux d'ammonium transformé en N_2O à la concentration en nitrite dans la phase soluble. Au-delà d'une valeur seuil en nitrite, le flux d'ammonium oxydé est orienté vers la production de N_2O . Afin d'analyser ces modèles nous avons utilisé les données expérimentales acquises pendant la phase aérobie du GSBR en considérant une biomasse floculée (afin de s'affranchir des phénomènes de diffusion dans les granules, réduisant ainsi significativement le temps de calcul). La comparaison de ces modèles (résultats non présentés) montre qu'ils sont tous capables de décrire l'évolution des espèces azotées dans la phase soluble (oxydation de l'ammonium avec accumulation transitoire de nitrite et accumulation de nitrate). Cette étude a aussi montré que les modèles de Mampaey2 et Houweling permettaient de décrire l'accumulation observée de N_2O dans la phase gazeuse. Par contre, le modèle de Ni ne permet pas de décrire cette accumulation à cause du terme d'inhibition par l'oxygène qui rend les vitesses de réactions N4 et N5 trop faibles, l'oxygène n'étant pas limitant dans la phase soluble pendant la phase aérobie du GSBR. Un test considérant les granules (cas réel) a été réalisé et montre que la diffusion de l'oxygène

à l'intérieur des granules, entraînant des limitations locales en oxygène, ne permet pas non plus de décrire les productions de N₂O observées. Enfin, le modèle Mampaey1 n'arrive pas à décrire l'accumulation de N₂O, le NO étant strippé avant d'être réduit en N₂O. Afin de décrire la nitrification pendant la phase aérobie du GSBR, nous avons donc inclus dans un premier temps le modèle d'Houweling puis celui de Mampaey2 dans le modèle global.

Tableau 1. Modèles de nitrification et production de N₂O.

	S _{N2O}	S _{NO}	S _{NH}	S _{NH2OH}	S _{NO2}	S _{NO3}	S _O	X _{AOB}	X _{NOB}
Mampaey	M1		-inb m-1/Y _{AOB}		1/Y _{AOB}		-(3.43-Y _{AOB})/Y _{AOB}	1	
	M2		-inb m		-1/Y _{NOB}	1/Y _{NOB}	-(1.14-Y _{NOB})/Y _{NOB}		1
	M3	2/Y _{AOB}		-inb m-1/Y _{AOB}	-1/Y _{AOB}		-(2.29-Y _{AOB})/Y _{AOB}	1	
	M4	2/Y _{AOB}	-2/Y _{AOB}	-inb m-1/Y _{AOB}	1/Y _{AOB}		-(2.29-Y _{AOB})/Y _{AOB}	1	
	M1	$\mu_{AOB} * S_O / (S_O + K_{O, AOB}) * S_{FA} / (S_{FA} + K_{FA}) * X_{AOB}$							
	M2	$\mu_{NOB} * S_O / (S_O + K_{O, NOB}) * S_{FNA} / (S_{FNA} + K_{FNA, NOB}) * K_{L, FA, NOB} / (K_{L, FA, NOB} + S_{FA}) * X_{NOB}$							
	M3	$\eta_{AOB} * \mu_{AOB} * S_O / (S_O + K_{O, AOB}) * S_{FA} / (S_{FA} + K_{FA}) * S_{FNA} / (S_{FNA} + K_{FNA, AOB}) * X_{AOB}$							
	M4	$(\eta_{AOB}) * \mu_{AOB} * S_O / (S_O + K_{O, AOB}) * S_{FA} / (S_{FA} + K_{FA}) * S_{NO} / (S_{NO} + K_{NO, AOB}) * X_{AOB}$							
Ni	N1		-1	1			-1.14		
	N2				-1/Y _{AOB}	1/Y _{AOB}	-(2.29-Y _{AOB})/Y _{AOB}	1	
	N3			-inb m		-1/Y _{NOB}	1/Y _{NOB}	-(1.14-Y _{NOB})/Y _{NOB}	1
	N4		4		-1	-3			
	N5	4	-4		-1	1			
	N1	$\mu_{AOB, AMO} * S_O / (S_O + K_{O, AOB, S1}) * S_{FA} / (S_{FA} + K_{FA, AOB}) * X_{AOB}$							
	N2	$\mu_{AOB, HAO} * S_O / (S_O + K_{O, AOB, S2}) * S_{NH2OH} / (S_{NH2OH} + K_{NH2OH, AOB}) * X_{AOB}$							
	N3	$\mu_{NOB} * S_O / (S_O + K_{O, NOB}) * S_{FNA} / (S_{FNA} + K_{FNA, NOB}) * K_{L, FA, NOB} / (K_{L, FA, NOB} + S_{FA}) * X_{NOB}$							
	N4	$\eta_{AOB} * \mu_{AOB, HAO} * K_{L, O, AOB} / (S_O + K_{L, O, AOB}) * S_{NO2} / (S_{NO2} + K_{NO2, AOB}) * S_{NH2OH} / (S_{NH2OH} + K_{NH2OH, AOB}) * X_{AOB}$							
	N5	$\eta_{AOB} * \mu_{AOB, HAO} * K_{L, O, AOB} / (S_O + K_{L, O, AOB}) * S_{NO} / (S_{NO} + K_{NO, AOB}) * S_{NH2OH} / (S_{NH2OH} + K_{NH2OH, AOB}) * X_{AOB}$							
Houweling	H1		-1/Y _{AOB} -inb m		1/Y _{AOB}		-(3.43-Y _{AOB})/Y _{AOB}	1	
	H2	1/Y _{AOB}		-1/Y _{AOB}			-2.29/Y _{AOB}		
	H3			-inb m		-1/Y _{NOB}	1/Y _{NOB}	-(1.14-Y _{NOB})/Y _{NOB}	1
	H1	$\mu_{AOB} * S_O / (S_O + K_{O, AOB}) * S_{FA} / (S_{FA} + K_{FA, AOB}) * X_{AOB} * ((1 + \exp(\text{Slope} * (S_{NO2} / (S_{NO2} + K_{NO2}) - K)))^{(-1)})$							
	H2	$\mu_{AOB} * S_O / (S_O + K_{O, AOB}) * S_{FA} / (S_{FA} + K_{FA, AOB}) * X_{AOB} * (1 - ((1 + \exp(\text{Slope} * (S_{NO2} / (S_{NO2} + K_{NO2}) - K)))^{(-1)}))$							
	H3	$\mu_{NOB} * S_O / (S_O + K_{O, NOB}) * S_{FNA} / (S_{FNA} + K_{FNA, NOB}) * K_{L, FA, NOB} / (K_{L, FA, NOB} + S_{FA}) * X_{NOB}$							

Modélisation d'un GSBR. Notre procédé granulaire aérobie contenant une boue hybride (flocs et granules) permet d'éliminer l'azote grâce à une première phase anoxie de 20 minutes (dénitrification : réduction des nitrites et nitrates en N₂ et N₂O). S'en suit une phase aérobie de 120 minutes qui permet d'oxyder l'ammonium toujours présent en fin de phase anoxie en nitrite, puis en nitrate. Une production de N₂O pendant ces deux phases a été mise en évidence expérimentalement. Des perturbations du cycle standard ont également été effectuées par des ajouts en début de phase aérobie (après 20 minutes) de 10 mgN-NO₂.L⁻¹ et 20 mgN-NO₂.L⁻¹. Elles ont mis en évidence le lien entre la quantité de N₂O produit pendant la nitrification et la concentration en nitrite dans la phase soluble.

Afin de décrire le fonctionnement du GSBR, un modèle global a été développé. Ce modèle basé sur ASM3 inclut la dénitrification en 4 étapes de réduction successives des nitrates vers le N₂ gazeux proposé par Hiatt & Grady (2008). Cette description permet de modéliser la formation de N₂O pendant la phase anoxie, le N₂O étant un intermédiaire dans la chaîne de réduction des nitrates pendant la dénitrification. Les transferts gaz-liquide pour l'O₂, le NO et le N₂O ont également été considérés. Enfin, les modèles de Houweling puis Mampaey2 ont été inclus en considérant la forme N-NH₃ et N-HNO₂ comme les véritables substrats pour les bactéries AOB et NOB respectivement. Les granules ont été représentés comme des sphères d'un diamètre de 3 mm (diamètre moyen expérimental) et composées de 10 couches. Le logiciel de modélisation AQUASIM version 2.1g (Reichert, 1998) a été utilisé pour simuler le GSBR. La figure 1 présente les résultats de simulation pour les trois séries expérimentales (cycle standard et cycles perturbés par ajout de nitrite). La première ligne de graphiques présente l'évolution des espèces azotées pendant les phases anoxie et aérobie (cycle avec perturbation de 20 mgN-NO₂.L⁻¹ non caractérisé expérimentalement). Ces résultats montrent que le modèle est capable de décrire avec précision la dynamique de réduction des nitrates et de consommation de l'ammonium pendant la phase anoxie (consommation de la DCO non présentée et également bien prédite). S'en suit la phase aérobie de 120 minutes durant laquelle l'ammonium est oxydé en nitrite par les AOB, et les nitrites oxydés en nitrate par les NOB. Cette dynamique est également bien prédite par les deux modèles d'Houweling et Mampaey2 (les résultats de la

figure 1 correspondent au modèle d'Houweling) et pour les deux cycles « standard » et avec perturbation de « 10 mgN-NO₂.L⁻¹ ». Les lignes 2 et 3 de la figure 1 représentent la production de N₂O dans la phase gazeuse. La dénitrification en quatre étapes du modèle de Hiatt & Grady (2008) permet de décrire l'accumulation de N₂O pendant la phase anoxie pour les deux premiers cycles caractérisés expérimentalement. Pendant la phase aérobie, le modèle d'Houweling (ligne 2) et le modèle de Mampaey (ligne 3) ont des difficultés à décrire la dynamique d'accumulation de N₂O dans la phase gazeuse. En revanche, l'ordre de grandeur des quantités produites est convenable (voir Tableau 2). Expérimentalement, la fraction d'ammonium transformé en N₂O est de 0,52%, 2,65% et 7,71% pour le cycle standard et pour les cycles perturbés par ajout de 10 et 20 mgN-NO₂.L⁻¹ respectivement.

Tableau 2. Quantité de N₂O formée par litre de réacteur au cours de chaque période.

Ajout nitrite (mg N-NO ₂ .L ⁻¹)	Phase	N ₂ O (mg N-N ₂ O.L ⁻¹)		
		Expérimental	Houweling	Mampaey
0	Anoxic	0,06	0,13	0,13
	Aerobic	0,08	0,26	0,41
10	Anoxic	0,10	0,07	0,07
	Aerobic	0,31	0,48	0,53
20	Anoxic	ND	0,07	0,07
	Aerobic	1,18	1,37	0,79

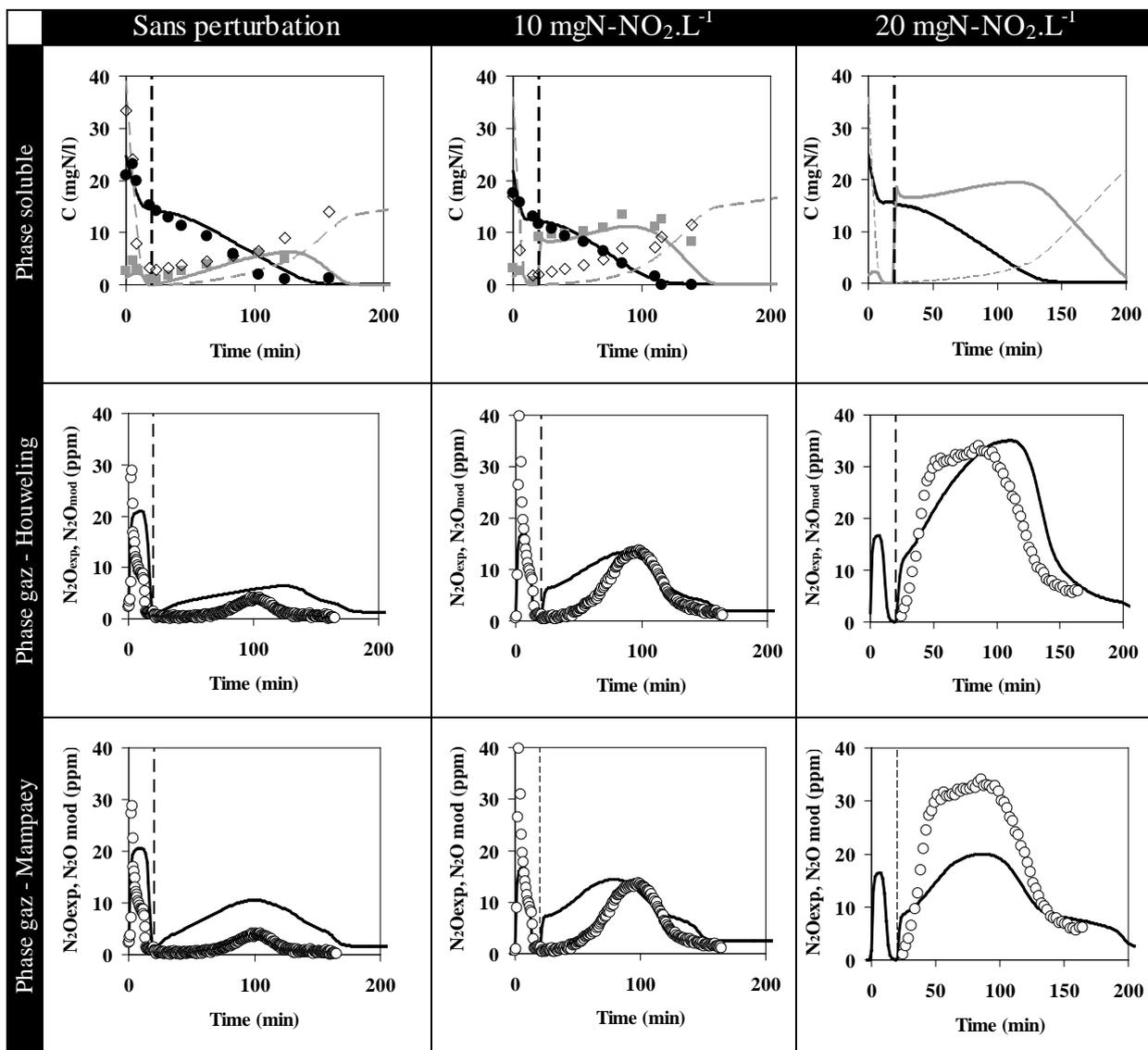


Figure 1. ASM3 modifié plus modèle Houweling en ligne 1 et 2 / Mampaey2 en ligne 3. (●) Concentration en ammonium total; (■) concentration en nitrite; (◇) Concentration en nitrate; (○) Concentration en N₂O dans la phase gaz; (-) N₂O modélisé. Le trait pointillé vertical différencie les phases anoxie et aérobie.

Conclusion. Le procédé granulaire aérobie a permis de mettre en évidence l'effet de la concentration en nitrite dans la phase soluble sur la production de N₂O pendant la nitrification. Cette oxydation de l'ammonium en nitrite réalisée par les bactéries AOB et la production de N₂O engendrée ont pu être modélisées grâce aux modèles de Houweling et Mampaey. Cependant, le modèle de Houweling est basé sur une fonction empirique qui ne décrit aucun phénomène biologique et un ajustement des paramètres de cette fonction est nécessaire pour chaque cas d'étude. L'intérêt de ce modèle est donc limité malgré des résultats obtenus convenables. En revanche, le modèle de Mampaey considère que le N₂O produit pendant la nitrification provient de la réduction des nitrites en NO puis en N₂O pendant l'oxydation de l'ammonium. Ce modèle biologique permet également de prédire l'ordre de grandeur des quantités de N₂O produites pour les trois cycles expérimentaux. Enfin, pour la première fois, un modèle « biofilm » décrivant l'élimination biologique de l'azote et la production de N₂O associée lors des étapes de nitrification et de dénitrification est proposé. Ce modèle global est basé sur AMS3 et ASMN et permet de décrire l'évolution des espèces azotées pendant les phases anoxie et aérobie du GSBP ainsi que la production de N₂O observée.

Remerciements. Les travaux de Mathieu Pocquet sont financés par l'Agence Nationale de la Recherche (projet CreativERU) et le Pôle mondial de compétitivité EAU. Les auteurs tiennent à remercier particulièrement E. Mengelle, M. Bounouba, D. Delagnes et les membres de l'équipe modelEAU pour leur aide précieuse. Peter Vanrolleghem est titulaire de la Chaire de Recherche du Canada en modélisation de la qualité de l'eau. Lisha Guo est financée par le projet TECC du Ministère du Développement Economique, de l'Innovation et de l'Exportation du Québec (MDEIE) ainsi que par le projet de recherche financé par le Fond Flamand pour la Recherche Scientifique (FWO - G.A051.10).

Références.

- Corominas, L.; Flores-Alsina, X.; Snip, L.; Vanrolleghem, P.A. (2012) Comparison of different modelling approaches to better understand and minimize greenhouse gas emissions from wastewater treatment plants. *Biotechnol. Bioeng.* DOI: 10.1002/bit.24544
- Filali, A. (2011) Analyse et modélisation du traitement de l'azote dans un procédé de granulation aérobie hybride. PhD. thesis. Science des procédés, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, France (in French).
- Filali, A.; Mañas, A.; Mercade, M.; Bessière, Y.; Biscans, B.; Spérandio, M. (2012) Stability and performance of two GSBP operated in alternating anoxic/aerobic or anaerobic/aerobic conditions for nutrient removal. *Biochem. Eng.*, 67, 10-19.
- Henze, M.; Gujer, W.; Matsuo, T.; van Loosdrecht, M.C.M. (2000) Activated sludge models ASM1, ASM2, ASM2d and ASM3, Scientific and Technical Reports. IWA Publishing: London, UK.
- Hiatt, W.C.; Grady, C.P.L.Jr. (2008) An updated process model for carbon oxidation, nitrification and denitrification, *Water Environ. Res.*, 80, 2145-2156.
- Houweling, D.; Wunderlin, P.; Dold, P.; Bye, C.; Joss, A.; Siegrist, H. (2011) N₂O emissions: Modeling the effect of process configuration and diurnal loading patterns. *Water Environ. Res.*, 83, 2131-2139.
- Kampschreur, M.J.; Temmink, H.; Kleerebezem, R.; Jetten, M.S.M.; van Loosdrecht, M.C.M. (2009) Nitrous oxide emission during wastewater treatment. *Water Res.*, 43, 4093-4103.
- Lemaire, R.; Meyer, R.; Taske, A.; Crocetti, G.R.; Keller, J.; Yuan, Z. (2006) Identifying causes for N₂O accumulation in a lab-scale sequencing batch reactor performing simultaneous nitrification, denitrification and phosphorus removal. *Journal of Biotechnology*, 122, 62-72.
- Mampaey, K.E.; Beuckels, B.; Kampschreur, M.J.; Kleerebezem, R.; van Loosdrecht, M.C.M.; Volcke, E.I.P. (2011) Modelling nitrous and nitric oxide emissions by autotrophic ammonium oxidizing bacteria. In: Proceedings IWA/WEF Nutrient Recovery and Management 2011 Conference. Miami, FL (USA), 9-12 January 2011.
- Ni, B.-J.; Rusalleda, M.; Pellicer-Nacher, C.; Smets, B.F. (2011) Modeling nitrous oxide production during biological nitrogen removal via nitrification and denitrification: Extensions to the general ASM models. *Environ. Sci. Technol.*, 45, 7768-7776.
- Ni, B.-J.; Yuan, Z.; Chandran, K.; Vanrolleghem, P.A.; Murthy, S. (2012) Evaluating mathematical models for Nitrous Oxide production by Autotrophic Ammonia-Oxidizing Bacteria. *Biotechnol. Bioeng.* DOI: 10.1002/bit.24620
- Quan, X., Zhang, M., Lawlor, P.G., Yang, Z., Zhan, X., Nitrous oxide emission and nutrient removal in aerobic granular sludge sequencing batch reactors, *Water Research* (2012), doi:10.1016/j.watres.2012.06.031.
- Reichert, P. (1998) AQUASIM 2.0—user manual, computer program for the identification and simulation of aquatic systems. Swiss Federal Institute for Environmental Science and Technology (EAWAG), Dübendorf, Switzerland.
- Sin, G.; Guisasola, A.; De Pauw, D.J.W.; Baeza, J.A.; Carrera, J.; Vanrolleghem, P.A. (2005) A new approach for modelling simultaneous storage and growth processes for activated sludge systems under aerobic conditions. *Biotechnol. Bioeng.*, 92, 600-613.
- Tallec, G.; Garnier, J.; Billen, G.; Gossailles, M. (2006) Nitrous oxide emissions from secondary activated sludge in nitrifying conditions of urban wastewater treatment plants: Effect of oxygenation level. *Water Res.*, 40, 2972-2980.
- Wan, J.F.; Bessiere, Y.; Spérandio, M. (2009) Alternating anoxic feast/aerobic famine condition for improving granular sludge formation in sequencing batch airlift reactor at reduced aeration rate. *Water Res.*, 43, 5097-5108.