Document généré le 8 mai 2025 18:22

Revue des sciences de l'eau
Journal of Water Science

Développement d'un modèle décrivant les variations de CODB et de biomasse bactérienne dans les réseaux de distribution

Development of a Model of BDOC and Bacterial Biomass Fluctuations in Distribution Systems

P. Servais, P. Laurent, G. Billen et D. Gatel

Volume 8, numéro 4, 1995

URI : https://id.erudit.org/iderudit/705232ar
DOI : https://doi.org/10.7202/705232ar

Aller au sommaire du numéro

Éditeur(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

0992-7158 (imprimé)
1718-8598 (numérique)

Découvrir la revue

Citer cet article

Servais, P., Laurent, P., Billen, G. & Gatel, D. (1995). Développement d'un modèle décrivant les variations de CODB et de biomasse bactérienne dans les réseaux de distribution. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, *8*(4), 427–462. https://doi.org/10.7202/705232ar

Résumé de l'article

Sur la base d'études microbiologiques expérimentales réalisées sur différents réseaux de distribution d'eau potable en France, un modèle de la dynamique des bactéries et du carbone organique biodégradable (CODB) a été développé (le modèle SANCHO).

Les processus suivants ont été pris en compte :

- l'hydrolyse bactérienne exoenzymatique de la matière organique et la croissance des bactéries libres et fixées, à partir des produits des hydrolyses ;

- la mortalité des bactéries, source de relargage de matière organique ;

- les interactions entre les surfaces internes des canalisations et les bactéries avec un processus d'adsorption réversible ;

- la consommation de chlore par réaction avec la matière organique et l'effet du chlore libre sur l'activité des bactéries en suspension et fixées qui a été déterminé expérimentalement.

Le modèle calcule, en considérant les cinétiques présentées ci-dessus, les variations spatiales à l'état stationnaire du CODB, du résiduel de chlore libre, de la biomasse bactérienne libre et fixée. Ce calcul s'effectue pour une masse d'eau circulant durant des temps connus dans des canalisations de diamètres décroissants.

Afin de valider ce modèle, des comparaisons entre les résultats expérimentaux et calculés par le modéle ont été effectuées pour deux réseaux de distribution différents. Un bon accord est observé entre les résultats expérimentaux et ceux calculés pour les situations présentées qui sont caractérisées par des teneurs très différentes en chlore et en CODB dans l'eau alimentant les réseaux.

Une fois validé, ce modèle peut être utilisé afin de prédire l'effet de certaines modifications de la qualité de l'eau alimentant un réseau sur la dynamique bactérienne au sein de ce réseau. Il permet de définir la qualité de l'eau requise en sortie de filière afin de respecter une qualité souhaitée dans tout le réseau de distribution.

Tous droits réservés © Revue des sciences de l'eau, 1995

Ce document est protégé par la loi sur le droit d'auteur. L'utilisation des services d'Érudit (y compris la reproduction) est assujettie à sa politique d'utilisation que vous pouvez consulter en ligne.

https://apropos.erudit.org/fr/usagers/politique-dutilisation/

Cet article est diffusé et préservé par Érudit.

Érudit est un consortium interuniversitaire sans but lucratif composé de l'Université de Montréal, l'Université Laval et l'Université du Québec à Montréal. Il a pour mission la promotion et la valorisation de la recherche.

https://www.erudit.org/fr/

REVUE DES SCIENCES DE L'EAU, Rev. Sci. Eau 8(1995) 427-462

Development of a model of BDOC and bacterial biomass fluctuations in distribution systems

Développement d'un modèle décrivant les variations de CODB et de biomasse bactérienne dans les réseaux de distribution

P. SERVAIS[1], P. LAURENT[1], G. BILLEN[1] et D. GATEL[2]

Reçu le 21 octobre 1994, accepté le 15 mars 1995*.

RÉSUMÉ

Sur la base d'études microbiologiques expérimentales réalisées sur différents réseaux de distribution d'eau potable en France, un modèle de la dynamique des bactéries et du carbone organique biodégradable (CODB) a été développé (le modèle SANCHO).

Les processus suivants ont été pris en compte :
– l'hydrolyse bactérienne exoenzymatique de la matière organique et la croissance des bactéries libres et fixées, à partir des produits des hydrolyses ;
– la mortalité des bactéries, source de relargage de matière organique ;
– les interactions entre les surfaces internes des canalisations et les bactéries avec un processus d'adsorption réversible ;
– la consommation de chlore par réaction avec la matière organique et l'effet du chlore libre sur l'activité des bactéries en suspension et fixées qui a été déterminé expérimentalement.

Le modèle calcule, en considérant les cinétiques présentées ci-dessus, les variations spatiales à l'état stationnaire du CODB, du résiduel de chlore libre, de la biomasse bactérienne libre et fixée. Ce calcul s'effectue pour une masse d'eau circulant durant des temps connus dans des canalisations de diamètres décroissants.

Afin de valider ce modèle, des comparaisons entre les résultats expérimentaux et calculés par le modèle ont été effectuées pour deux réseaux de distribution différents. Un bon accord est observé entre les résultats expérimentaux et ceux calculés pour les situations présentées qui sont caractérisées par des teneurs très différentes en chlore et en CODB dans l'eau alimentant les réseaux.

1. Groupe de Microbiologie des Milieux Aquatiques, Université Libre de Bruxelles. Campus de la Plaine, CP 221, boulevard du Triomphe, B-1050 Bruxelles.
2. Compagnie Générale des Eaux, Quartier Valmy, 32, Place Ronde, F.92982 Paris La Défense, France.

* Les commentaires seront reçus jusqu'au 15 juillet 1996.
** Communication présentée au Colloque International sur la « Matière Organique Biodégradable » Ecole Polytechnique de Montréal – juin 1994.

Une fois validé, ce modèle peut être utilisé afin de prédire l'effet de certaines modifications de la qualité de l'eau alimentant un réseau sur la dynamique bactérienne au sein de ce réseau. Il permet de définir la qualité de l'eau requise en sortie de filière afin de respecter une qualité souhaitée dans tout le réseau de distribution.

Mots clés : *carbone organique dissous biodégradable (CODB), biomasse bactérienne, eau potable, réseau de distribution, modèle.*

SUMMARY

On the basis of experimental microbiological studies performed on different French distribution systems, a model of the dynamics of bacteria and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) in distribution networks was developed (the SANCHO model). The following processes are taken into account in the model: exoenzymatic hydrolysis of dissolved organic matter by bacteria and growth of free and fixed bacteria on the hydrolysis products; bacterial mortality which releases organic matter; reversible adsorption of bacteria and their biological attachment to inner pipe surfaces, chemical consumption of free chlorine and impact of free chlorine on the activity of free and fixed bacteria. The kinetics of these processes were all studied experimentally.

The model considers the case of a water body flowing down in successive pipes of decreasing diameters and calculates the spatial variations, at steady state, of BDOC and chlorine concentration, free and fixed biomass.

The SANCHO model was validated by the comparison of calculated and experimental data on various distribution systems which work over a large range of conditions. Good agreement between calculated and measured values of chlorine, BDOC, suspended and fixed bacterial biomass was found for the different distribution networks.

This model can be used to define the water quality required at the outlet of a given treatment plant in order to avoid problems of bacterial growth within the distribution system fed by this plant.

Key-words : *biodegradable dissolved organic carbon (BDOC), bacterial biomass, drinking water, distribution systems, model.*

Cet article, d'auteurs francophones, soumis en anglais est publié dans cette version, accompagné de sa traduction en français, selon les règles de la Revue des Sciences de l'Eau/Journal of Water Science. *Les textes anglais d'auteurs non francophones sont acceptés dans une certaine proportion s'ils sont précédés d'un résumé français de 1 000 mots.*

1 – INTRODUCTION

A major objective of public health microbiology is to ensure bacteriologically safe drinking water. In this context, a growing concern among drinking water microbiologists is the frequent deterioration of water quality due to bacterial growth within distribution systems. The increase in bacterial abundance can be at the origin of various problems for drinking water producers and consumers, including the development of a trophic web with growth of higher organisms, the modification of the water characteristics (turbidity, taste, odor, color), and the interference in the detection of sanitary indicators.

In order to prevent and control bacterial multiplication in distribution systems, most water utilities used chlorination of treated water: an alternative approach to control bacterial growth in distribution system could be the limitation of the nutrient source required for the growth of heterotrophic bacteria, *i.e.* the biodegradable dissolved organic carbon (BDOC).

In recent years, different studies were carried out in full scale distribution networks (SERVAIS *et al.*, 1992) and in pilot systems (MATHIEU *et al.*, 1992; BLOCK, 1992), focusing on the role of BDOC in distribution systems. On the basis of experimental data collected from different French distribution systems, SERVAIS *et al.* (1993) showed that BDOC in the finished water was the major controlling factor of bacterial dynamics when free chlorine was depleted. The different studies conclude that the control of biodegradable organic carbon remains one of the prime objectives to achieve biologically stable water (MATHIEU *et al.*, 1992; VAN DER KOOIJ, 1992; SERVAIS *et al.*, 1993). This solution, in addition to reducing bacterial growth by limiting the nutrient sources, offers two additional advantages: removal of organic matter initially reduces the formation of undesirable disinfection byproducts such as trihalomethanes (THM) during chlorination and also increases the stability of the chlorine residual in the distribution system by reducing chlorine demand.

In this context, important questions concerning the impact of various parameters on bacterial growth (BDOC concentration, disinfectant level, residence time...) have to be answered for a rational management of treatment processes and distribution networks. Bacterial dynamics in distribution systems are so complex that a mathematical model is a useful tool to investigate these questions.

On the basis of microbiological experiments performed during studies started by the SEDIF (Syndicat des Eaux d'Ile de France) on Parisian distribution systems (SERVAIS *et al.*, 1992), a model of the dynamics of bacteria and BDOC in distribution networks has been developed (the SANCHO model). This model calculates the spatial gradients, at steady state, of BDOC and chlorine concentrations, free and fixed biomass; it considers the case of a water body flowing at given rates in successive pipes of decreasing diameters.

In the first part of this paper, the kinetics of the different processes taken into account in the model are presented and the values used for the various parameters included in the equations are justified on the basis of experimental data.

In the second part of the paper, comparisons between experimental data and data calculated by the model are presented for two French distribution systems (Toulouse and Auvers-sur-Oise) in order to validate the model. Finally, the model is used to predict the variations of BDOC and bacterial biomass in distribution systems for different qualities of water feeding the networks (BDOC, chlorine residual, bacterial numbers, temperature).

2 – MATERIAL AND METHODS

2.1 Sampling in distribution systems

In order to validate the SANCHO model, experimental data collected from two distribution systems (Toulouse and Auvers-sur-Oise) were compared with model calculations. During all sampling campaigns carried out on both networks, temperature, disinfectant residual concentrations, BDOC, abundance and biomass of free bacteria were measured in 15 to 25 water samples. In order to estimate biomass fixed on the inner surface of the pipes, pieces of cast-iron were incubated for colonization for one month in PVC incubation devices directly fed by a continuous flow of water from the distribution networks. Preliminary tests showed that there were no significant differences in fixed biomass between cast-iron pieces colonized in these kinds of devices or directly at the inner pipe surface (SERVAIS *et al.*, 1993).

2.2 Analytical methods

The biodegradable fraction of DOC (BDOC) was determined according to the bioassay procedure developed by SERVAIS *et al.* (1987, 1989a). It consists of measuring the DOC decrease in a water sample inoculated with indigenous bacteria (1% of 2 µm pore size filtered raw water) during a 30 day incubation period in the dark at 20°C. BDOC is calculated as the difference between DOC at the beginning and at the end of the incubation. The dissolved organic carbon (DOC) was measured with a Dohrmann DC-180 Total Carbon Analyser using ultra-violet promoted persulfate oxidation of organic carbon, followed by infra-red and spectrophotometric detection of the CO_2 produced by the oxidation. The accuracy of the method has been estimated at ± 0.05 mg C/l (SERVAIS *et al.*, 1989a).

In the SANCHO model BDOC is considered to be composed of three classes of compounds H_1, the rapidly hydrolysable macromoleculecular biopolymers, H_2, the slowly hydrolysable macromoleculecular biopolymers and S, the directly assimilable substrates (see section 3.1). In order to classify BDOC into the different classes of biodegradable substrates, H_1, H_2 and S, experiments of bacterial growth in batch culture (495 ml of 0.2 µm filtered treated water and 5 ml of 2 µm filtered raw water), were performed on the treated water. The determination of the three classes was based on the best fitting of the experimental data of bacterial biomass using the HSB model, described in the section 3.1, adapted to the conditions of batch culture (SERVAIS, 1986). An example of such a determination is given in Figure 1.

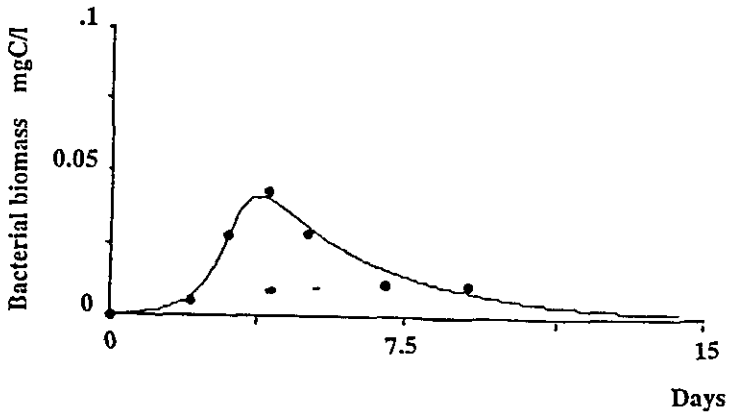


Figure 1 *Example of bacterial biomass variations in a batch culture (495 ml of 0.2 µm filtered treated water and 5 ml of 2 µm filtered raw water incubated in the dark at 20°C) (sample from Méry-sur-Oise plant, July 1991 – BDOC = 0.53 mg C/l).*

(•) Experimental data; (–) calculation by the HSB model with:
$H_1(o)$ = 0.32 mg C/l,
$H_2(o)$ = 0.18 mg C/l,
S(o) = 0.03 mg C/l.

Exemple de variations de biomasse bactérienne dans une expérience de culture en batch (495 ml d'eau traitée filtrée sur 0,2 µm plus 5 ml d'eau brute filtrée sur 2 µm incubée à 20 °C à l'obscurité) (échantillon de l'usine de Méry-sur-Oise, juillet 1991 – CODB = 0,53 mgC/l).

(•) Résultats expérimentaux ; (–) calcul par le modèle HSB avec :
$H_1(o)$ = 0,32 mg C/l,
$H_2(o)$ = 0,18 mg C/l,
S(o) = 0,03 mg C/l.

Bacterial numbers were determined by epifluorescence microscopy after acridine orange staining according to the procedure of HOBBIE *et al.* (1977). Cell size was estimated on enlargements of photographs and biomass was calculated from abundance and biovolume distribution using the biovolume dependent conversion factor proposed by SIMON and AZAM (1989).

In order to estimate the biomass of fixed bacteria, an original method was developed, based on the measurement of potential exoproteolytic activity (SOMVILLE & BILLEN, 1983), which was shown to be proportional to bacterial biomass (BILLEN, 1991). Measurements are based on the detection of a fluorescent compound (β-naphthylamine) (βN) which is produced after hydrolysis of a non-fluorescent substrate (L-leucyl-β-naphthylamide) (LLβN) by the bacterial exoproteases. A conversion factor of 6.58 µg C of bacterial biomass per nmole of βN per minute was established by comparing the potential exoproteolytic activity of bacterial suspensions with the biomass estimated by epifluorescence microscopy as described in the previous section (SERVAIS *et*

al., 1992). A special incubation device has been built to incubate, in presence of LLβN, only the surface of the cast-iron coupon which has been in contact with the flowing water. The detection limit of this method was estimated at 0.02 µg C/cm^2. Fixed bacterial abundance was calculated by dividing fixed biomass by the average carbon content of the bacteria.

3 – DEVELOPMENT OF THE SANCHO MODEL

The developed model, called SANCHO, was adapted from the model of biological filtration on GAC (CHABROL model) recently developed by BILLEN *et al.* (1992). An analogy indeed exists between the processes occurring during progression of the water within a long pipe with attached bacteria on its wall, and those occurring during filtration through a solid support. The processes taken into account in the SANCHO model are the following *(fig. 2)*:

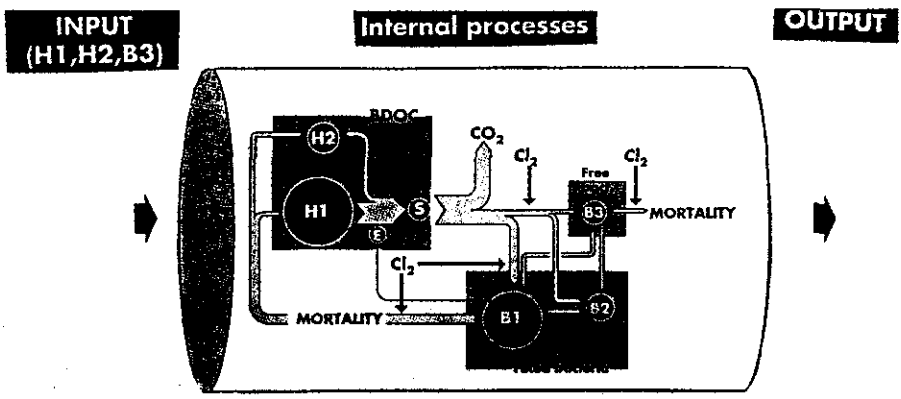


Figure 2 Schematic representation of the processes taken into account in the model of bacterial dynamics in the distribution system (SANCHO model).

H_1: rapidly hydrolysable polymeric BDOC;
H_2: slowly hydrolysable polymeric BDOC;
S: directly assimilable substrate;
B_1: biologically fixed bacteria;
B_2: adsorbed bacteria;
B_3: free bacteria.

Représentation schématique des processus pris en compte dans le modèle de la dynamique des bactéries dans le réseau (modèle SANCHO).

H_1 : matière polymérique rapidement hydrolysable ;
H_2 : matière polymérique lentement hydrolysable ;
S : substrat directement assimilable ;
B_1 : bactéries fixées biologiquement ;
B_2 : bactéries adsorbées ;
B_3 : bactéries en suspension.

(i) Interaction between organic matter and bacteria including the exoenzymatic hydrolysis of biodegradable dissolved organic matter by bacteria, the growth of free and fixed bacteria on the hydrolysis products; bacterial mortality which releases organic matter.

(ii) The reversible adsorption and biological attachment of bacteria onto the inner pipe surface.

(iii) Chemical consumption of free chlorine and impact of free chlorine on free and fixed bacterial activity.

The kinetics of the basic processes involved in the SANCHO model are presented in the next sections.

3.1 Interaction between organic matter and bacteria

A general model of organic matter utilization by natural population of heterotrophic bacteria in aquatic environments (the HSB model) was established on the basis of the recent knowledge gained in the field of microbial ecology (SERVAIS, 1986; BILLEN & SERVAIS, 1989; SERVAIS & BILLEN, 1993). It was shown that the rate limiting step in the utilization of complex organic matter, present in water mostly in macromolecular form, consists in its extracellular enzymatic hydrolysis (BILLEN, 1991). Exoenzymatic hydrolysis of macromolecules produces monomeric substrates (S), such as amino-acids and monosaccharides, which are rapidly taken up and utilized by bacteria (B), according to Michaelis-Menten kinetics :

$$\text{Direct substrate uptake} = b_{max} \frac{S}{S+Ks} B \qquad (1)$$

where

b_{max} is the maximum rate of substrate uptake per unit bacterial biomass (h^{-1}) and K_s is the half-saturation constant of direct substrate uptake (mg C/l).

A constant fraction Y of the amount of substrate taken up is used for the production of biomass and exopolymers, the remaining fraction being respired. Only a part of dissolved organic matter is subject to exoenzymatic hydrolysis. It is defined as the biodegradable fraction (BDOC), which can be experimentally determined as described in the METHODS section. A closer analysis of this biodegradable fraction revealed that it can be considered to include two classes of biodegradability, rapidly (H_1) and slowly (H_2) hydrolysed respectively, each according to Michaelis-Menten kinetics with its own parameters.

$$\text{exoenzymatic hydrolysis rate} = e_{i(max)} \frac{H_i}{H_i + K_{H_i}} B \qquad (2)$$

where

$e_{i(max)}$ is the maximum rate (h^{-1}) of exoenzymatic hydrolysis of macromolecular BDOC of class *i*, per unit of bacterial biomass and

K_{Hi} is the corresponding half-saturation constant (mg C/l).

In the HSB model, bacterial mortality is considered to obey first-order kinetics with regard to bacterial biomass; it is characterized by the first order constant k_d expressed in h^{-1} (SERVAIS *et al.*, 1985;1989b).

The direct response to temperature of bacterial activity and mortality is characterized by sigmoidal function:

$$Act\ (T) = Act\ (T_{opt})\ \exp - [(T_{opt} - T)^2/\sigma] \quad (3)$$

with
T: *in situ* temperature,
T_{opt}: temperature for which bacterial activity is maximum,
σ: width of the sigmoidal relationship.

As the overall effect of both the physiological direct response and the gradual adaptation of the communityto slow seasonal change s of temperature have to be considered, the following temperature dependency for the parameters Topt and will be taken into account (BILLEN *et al.*, 1992):

$$T_{opt}(T) = 40 - (20 - T)/2\ \ (°C) \quad (4)$$

$$\sigma\ (T) = 18 - (20 - T)/2\ \ (°C) \quad (5)$$

The values of the parameters used in the SANCHO model are listed in the Table 1; they result from previous determinations summarized in BILLEN & SERVAIS (1989). For e_{1max}, e_{2max}, b_{max} and k_d, The values at temperature T are recalculated from the value at 20°C given in Table 1 by multiplying the 20°C value by the ratio Act (T) / Act (20). The terms Act (T) and Act (20) are both calculated using equation 3.

Table 1 *Values of the parameters for the bacterial utilization of BDOC taken into account in the SANCHO model.*

Tableau 1 Valeurs des paramètres de l'utilisation bactérienne du CODB pris en compte dans le modèle SANCHO.

Parameters	Units	Values
e_{1max}	1/h	0.75 (at 20°C)
KH_1	mg C/l	0.25
e_{2max}	1/h	0.25 (at 20°C)
KH_2	mg C/l	2.50
b_{max}	1/h	0.6 (at 20°C)
K_s	mg C/l	0.05
Y	mg C/mg C	0.15
k_d	1/h	0.03 (at 20°C)

3.2 Interaction between bacteria and inner pipe surfaces

Attachment of bacteria on a solid support is known to involve two basically different processes (FLETCHER, 1980; MARSHALL & BITTON, 1980):

(i) a rapid and reversible physicochemical adsorption process;

(ii) a slow irreversible biological attachment process involving active bacterial secretion of polysaccharides;

LANGMUIR's theory is suitable for describing the kinetics of the *adsorption/desorption process*. It assumes that the rate of bacterial adsorption onto the support is proportional to the concentration of the bacteria (B_3) in the liquid phase and to the concentration of free adsorption sites on the support. The

latter is obviously equal to the difference between the maximum adsorption capacity (SB) of the support and the concentration of adsorbed bacteria (B_2):

$$\text{adsorption rate} = k_{ads}\, B_3\, (SB - B_2) \tag{6}$$

where

k_{ads} is the adsorption-rate constant for bacteria onto the support, that means that when bacterial adsorption on a virgin support is considered, the relationship between the initial adsorption rate can be defined by the following relationship:

$$\text{initial adsorption rate} = k_{ads} \cdot B_3 \cdot SB \tag{7}$$

On the other hand, desorption is assumed to be a first-order reaction with respect to the concentration of occupied adsorption sites:

$$\text{desorption rate} = k_{des} \cdot B_2 \tag{8}$$

where

k_{des} is the desorption-rate constant of bacteria from the support. Steady-state is reached when adsorption and desorption rates match, *i.e.* when

$$B_2 = SB \frac{B_3}{(k_{des}/k_{ads}) + B_3} \tag{9}$$

Initial adsorption rate and concentrations of adsorbed and suspended bacteria at the equilibrium were experimentally determined several times for different initial concentration of suspended bacteria.

For this, cultures of radioactively labelled bacteria were used; they were obtained by enriching tap water with 500 mg/l yeast extract, incubating it at 20°C for 24 h in the presence of 20 nM ^{3}H-thymidine (40-40 Ci/mmol) and dialysing to remove the excess of nutrients and radioactivity.

Small volumes of a dilution of this culture were put in contact under agitation with virgin pieces of cast iron. Aliquots from the liquid phase were collected at intervals of a few hours. The initial rate of bacterial adsorption and equilibrium adsorption value could be determined from the results. Absorbed bacteria at equilibrium were plotted against suspended bacteria at equilibrium; from equation (9), SB and the ratio k_{des}/k_{ads} were determined. Initial adsorption rates were also plotted against abundance of suspended bacteria. As shown by equation (7), the slope of the regression straight line is equal to $SB \cdot k_{ads}$. From these two types of results, SB, k_{ads} and k_{des} can thus be determined. Examples of determination of SB, k_{ads} and k_{des} are given in Figures 3 and 4.

The values of adsorption/desorption parameters obtained for cast-iron used in the model are shown in Table 2. The values are given in the table in terms of biomass (µg C/cm^2) rather than in terms of abundance of bacteria (cells/cm^2), as all the calculations in the model are performed in biomass units. The conversion is carried out using a biovolume dependent conversion factor as described in the Methods section.

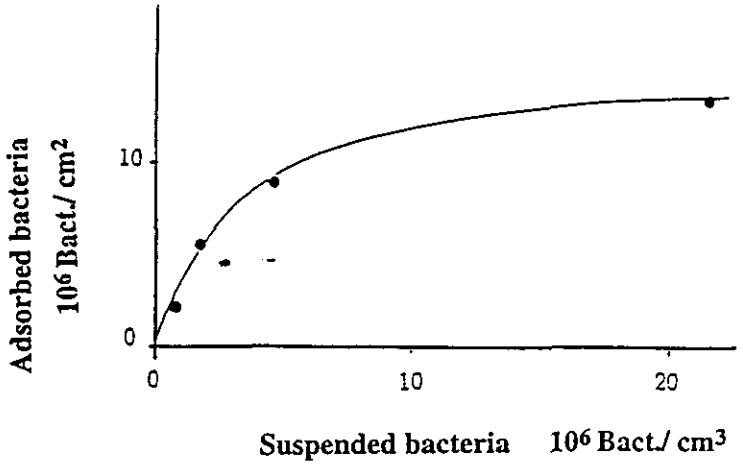


Figure 3 *Example of experimental relationship between the abundance of adsorbed bacteria on cast-iron pieces and the abundance of suspended bacteria at equilibrium.*

Exemple de relation expérimentale entre la concentration en bactéries adsorbées sur des pastilles en fonte colonisées et la concentration en bactéries libres à l'équilibre.

Table 2 *Parameter values of the adsorption characteristics of bacteria on cast-iron used in the model.*

Tableau 2 Valeurs des paramètres caractéristiques de l'asorption et de la désorption des bactéries sur la fonte utilisées dans le modèle.

SB	1.8	(µg C/cm²)
k_{ads}	3.0	1/(µg C/ml) · h
k_{des}	0.2	1/h

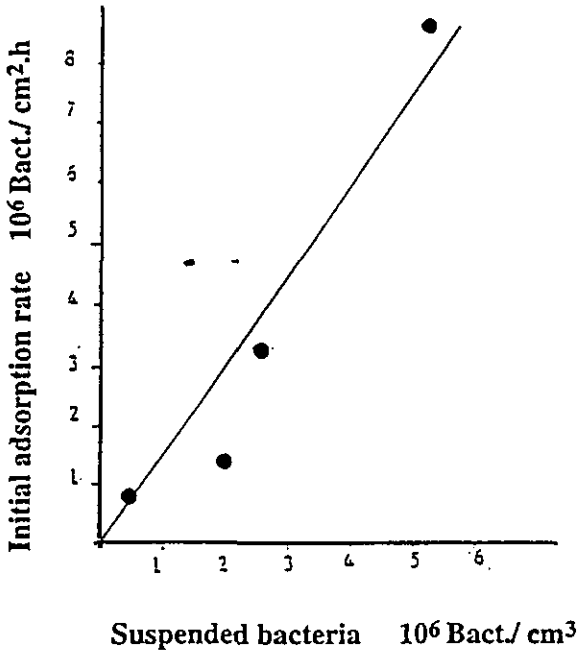


Figure 4 *Initial adsorption rate on cast-iron plotted against the abundance of suspended bacteria.*

Vitesse initiale d'adsorption sur la fonte en fonction de la concentration en bactéries libres.

A slow irreversible biological attachment process involving active bacterial secretion of polysaccharides is also considered. Biological fixation results from the growth of previously adsorbed or fixed bacteria at sites where attachment is possible. Since in the studied distribution system, fixed bacterial biomass never exceeded 2 µg C · cm^{-2} (SERVAIS *et al.*, 1993), it seems that constitution of an actual biofilm covering all the inner pipe surface never occurs. We made the assumption, which is not necesseraly valid in all cases that everything happened as if a maximum capacity of bacterial biomass attachment (SP) exists for a given support, possibly corresponding to the existence of sites protected from the shear due to the flow of water. Therefore, it was assumed that the rate of increase of attached bacterial biomass (B_1) depends on the growth rate of adsorbed and previously attached bacteria, in proportion to the space remaining available on the « *protected sites* » (SP-B_1/SP). The fraction of B_1 and B_2 production, which cannot find places at these sites, produces free bacteria in the interstitial water (B_3). In the model, SP was fixed at 2 µg C · cm^{-2}.

3.3 Chlorine dynamics and chlorine impact on bacteria

3.3.1 Chlorine dynamics

As observed on site, the presence of chlorine in the finished water is an important controlling factor of the bacterial dynamics in the network. The SANCHO model takes into account both the processes responsible for chlorine consumption in the distribution system and the impact of free chlorine of bacterial activity and mortality.

Work by JADAS-HECART *et al.* (1992) showed that the rate of chlorine degradation, after an initial phase of rapid demand (which is satisfied during the initial storage of water after chlorination and before dechlorination and injection in the distribution system), follows first-order kinetics with regards to chlorine concentration (Cl_2) and total chlorine demand (DCL):

$$\frac{dCl_2}{dt} = -k \cdot Cl_2 \cdot DCL \tag{10}$$

In the water phase, the total chlorine demand is due to DOC. A bibliographic study on waters from North America and France (JADAS-HECART, 1989) indicated total chlorine demand between 1 to 3 mg Cl_2/mg DOC. The chlorine demand decreases progressively as chlorine reacts with organic matter following the relationship:

$$\frac{dDCL}{dt} = -k \cdot Cl_2 \cdot DCL \tag{11}$$

The initial total chlorine demand (DCL_o) is equal to:

$$DCL_o = bBDOC * BDOC + bRDOC * RDOC \tag{12}$$

where bBDOC and bRDOC are respectively the total chlorine demand associated with the biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) and the refractory dissolved organic carbon (RDOC).

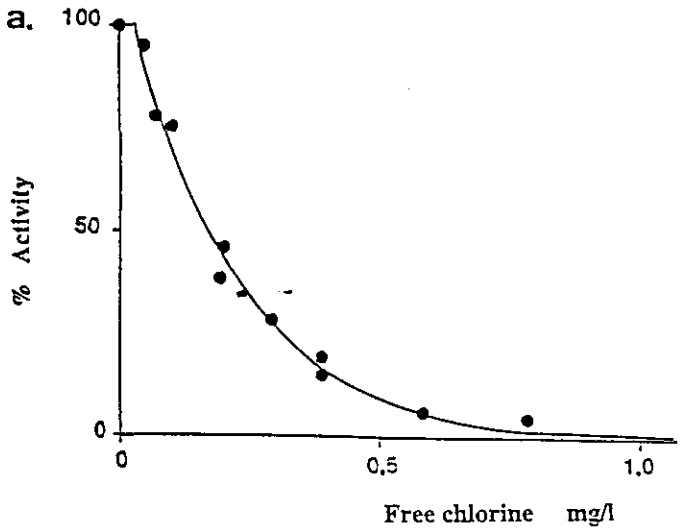
Values for the first order kinetic constant (k), for total chlorine demand of BDOC (bBDOC) and RDOC (bRDOC) were determined by following decrease of chlorine concentration in batch experiments.

The contribution of the bacterial biomass fixed on inner pipes surfaces to the chlorine consumption was taken into account using the same kind of relationships as equation 12. We considered that the chlorine demand of fixed biomass was equal to the chlorine demand associated to the BDOC (bBDOC).

The effect of temperature on the constant k and total chlorine demand was demonstrated by JADAS-HECART *et al.* (1992) to be described by exponential relationships.

3.3.2 Impact of chlorine on bacterial activity and mortality

The impact of chlorine on the activity of suspended and fixed bacteria was investigated. For suspended bacteria, the activity of natural freshwater bacteria was measured by 3H-thymidine incorporation method after addition of various quantities of chlorine. For the fixed bacteria, the oxygen consumption by bacteria fixed onto cast iron pieces was measured at different chlorine concentrations. Results are presented in Figure 5. In both cases, the effect can



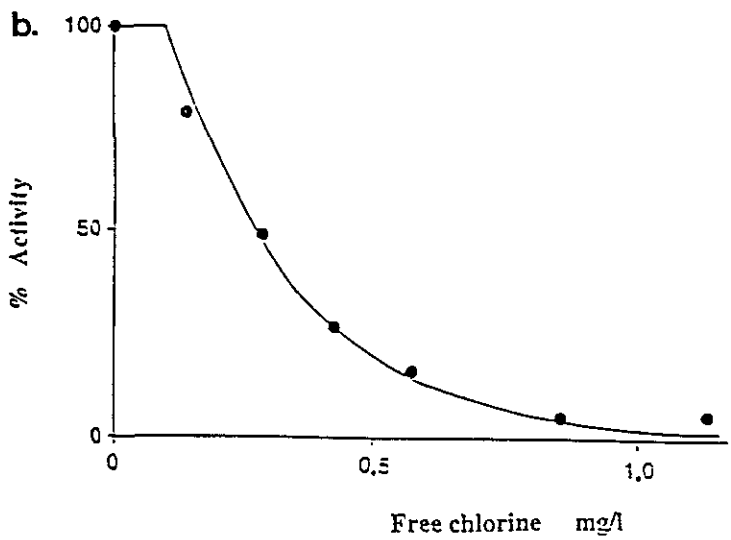


Figure 5 *Impact of free chlorine on the activity of suspended bacteria (a) and fixed bacteria (b). (•) Experimental data; (–) simulation by relationship (11) with parameters values given in Table 3.*

Effet du chlore libre sur l'activité des bactéries en suspension (a) et des bactéries libres (b). (•) Résultats expérimentaux ; (–) simulation par la relation (11) avec les valeurs de paramètres reprises au tableau 3.

be represented by an equation of the following form which is a decreasing exponential relationship with a threshold

$$Act(Cl_2) = Act(0)\exp\left[-\left(\frac{Cl_2 - Clm}{dCl}\right)\right] \quad (13)$$

where
Clm is the threshold above which an effect of chlorine on bacterial activity was observed (0.03 mg $Cl_2 . l^{-1}$ for suspended bacteria and 0.1 mg $Cl_2 . l^{-1}$ for fixed bacteria).
dCL is a characteristic chlorine concentration defining the rate of decrease of the activity with increasing chlorine concentrations.

The experiments show that fixed bacteria are more resistant to free chlorine action. Some authors suggested that the presence of extracellular polymer offer a protection against chlorine to fixed bacteria (VAN DER WENDE *et al.*, 1989; LECHEVALLIER *et al.*, 1990). In the case of our experiment, the difference in sensitivity of fixed and suspended bacteria was nevertheless very small. The values of Clm and dCL for suspended and fixed bacteria are given in Table 3.

Table 3 *Parameter values describing the effect of the chlorine on bacterial activity and mortality (see equations (13) and (14) in the text).*

Tableau 3 Valeurs des paramètres décrivant l'impact du chlore sur l'activité et la mortalité bactérienne (voir l'équation (13) et (14) dans le texte).

		Suspended bacteria	Fixed bacteria
Clm	mg Cl_2/l	0.03	0.1
dCl	mg Cl_2/l	0.2	0.25

The SANCHO model also considers a chlorine-dependent bacterial mortality due to cell lysis. This additional mortality increases with increasing chlorine concentration according to a relationship opposite to that describing the impact of chlorine on bacterial activity. The first-order bacterial mortality rate considered in the model is so the sum of a term independent of the chlorine concentration (k_d) and a term depending on the chlorine concentration equal to:

$$kdcl \cdot \exp\left[-\left(\frac{Cl_2 - Clm}{dCl}\right)\right] \quad (14)$$

with kdcl equal to 0.01 h^{-1}.

4 – CALCULATIONS AND PREDICTIONS OF THE SANCHO MODEL

From the above description of the kinetics of the basic processes involved in the SANCHO model, the equations describing the variations of the seven variables of the model (H_1, H_2, S, B_1, B_2, B_3, Cl_2) can be written. These

equations, which are the expression of mass balance for each variable in each section of the distribution system, are very similar to those presented in detail by BILLEN *et al.* (1992) for the model of biological filtration (CHABROL model). These calculations require the knowledge of the value of some variables (H_1, H_2, S, B_3, Cl_2) in the water feeding the distribution system.

Using the initial values of organic matter, suspended biomass and free chlorine, the SANCHO model calculated the spatial variations of BDOC and chlorine concentrations, free and fixed bacterial biomass under permanent hydraulic conditions. It considers the case a water mass flowing during given residence times in successive pipes of decreasing diameters.

An example of calculation of the model is presented in figure 6. It concerns an influent water containing BDOC of 0.3 mg C/l and a chlorine residual of

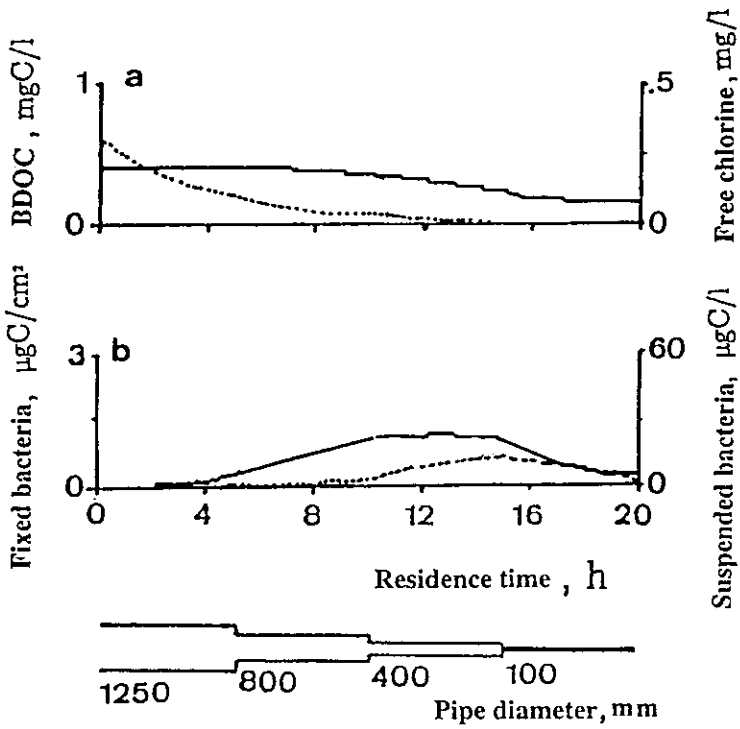


Figure 6 *Longitudinal variations of (a) BDOC (–), free chlorine (...); (b) fixed bacterial biomass (–) and suspended bacterial biomass (...), calculated by the SANCHO model at 20°C (BDOC and free chlorine concentrations in inflowing water are respectively 0.3 mg C/l and 0.3 mg Cl_2/l).*

Variations longitudinales à 20 °C du (a) CODB (–), du résiduel de chlore libre (...) ; (b) de la biomasse bactérienne fixée (–) et libre (...), calculées par le modèle SANCHO (concentrations en CODB et en résiduel de chlore libre dans l'eau refoulée respectivement 0,3 mg C/l et 0,3 mg Cl_2/l).

0.3 mg Cl_2/l; the model calculates the variations of the different parameters when the water flows during 20 hours successively in 1250 mm diameter pipes (5 h), 800 mm (5 h), 400 mm (5 h) and 100 mm (5 h). Three successive areas can be distinguished in this example: in the first one (0 to 4 h), development of biofilm is very limited because the level of chlorine keeps the bacterial growth rate very low. BDOC is not significantly biodegraded; in the second one (4 to 16 h), chlorine concentration is lower, thus decreasing the inhibition of bacterial activity. Fixed and suspended bacteria biomass increases while a significant fraction of BDOC is consumed; in the last one (> 16 h), no further decrease is observed and bacterial biomass decreases because bacterial mortality exceeds bacterial growth.

In order to compare the experimental results with the data calculated by the SANCHO model, the knowledge of the water residence time in the different pipes before reaching a sampling point is required.

The distribution system of Toulouse had been studied in April 1992 to validate the model. For this quite simple distribution system, software was previously developed to estimate the water residence time at different stations of the network (BAZER-BACHI, pers. com.). The Toulouse distribution system is fed by the Clairfont treatment plant. The Garonne river water supplies the plant and the treatment includes prechlorination, floculation-decantation, sand filtration and ozonation followed by final disinfection. The BDOC was around 0.4 mg C/l in the finished water.

Figure 7 presents the comparison of experimental data with the calculations of the model for eight sampling points in the Toulouse distribution system. For the calculation performed by the SANCHO model, the values of the parameters used were those presented in Tables 1, 2 and 3; it means that there was no adjustment of parameters values in order to correctly fit the experimental data. The general level and the trends of variations of each variable (Cl_2, BDOC, biomass of fixed and suspended bacteria) calculated by the model are in good agreement with the experimental observations.

Similar comparisons were carried out for the Auvers-sur-Oise distribution system. For this distribution network, the hydraulic SWS-STONER model was used in order to estimate the water residence time at the different stations of the network. The Auvers-sur-Oise distribution system was studied in September 1992 and July 1993. Until February 1993, this network was fed by the Méry-sur-Oise treatment plant, where ozonation and biological GAC filtration were applied in addition to pretreatment and sand filtration (BDOC in the outlet water around 0.3 mg C/l). The network was afterwards fed by a mixture of 20% of water from the classic treatment (from the Méry-sur-Oise treatment plant) and 80% of water filtered on a pilot unit of nanofiltration (KOPP *et al.*, 1993). The level of BDOC was then around 0.15 mg C/l in the finished water.

Figure 8 presents a comparison of calculated and measured data when the Auvers-sur-Oise network was fed by the Méry-sur-Oise treatment plant (September, 1992). Figure 9 presents the same calculation for a situation sampled when this network was fed by a mixture of 80% water filtered by a pilot unit of nanofiltration and 20% water from the Méry-sur-Oise treatment plant (July, 1993). Both situations are very different with respect to the quality of the water entering the distribution system; in September 1992, the level of BDOC

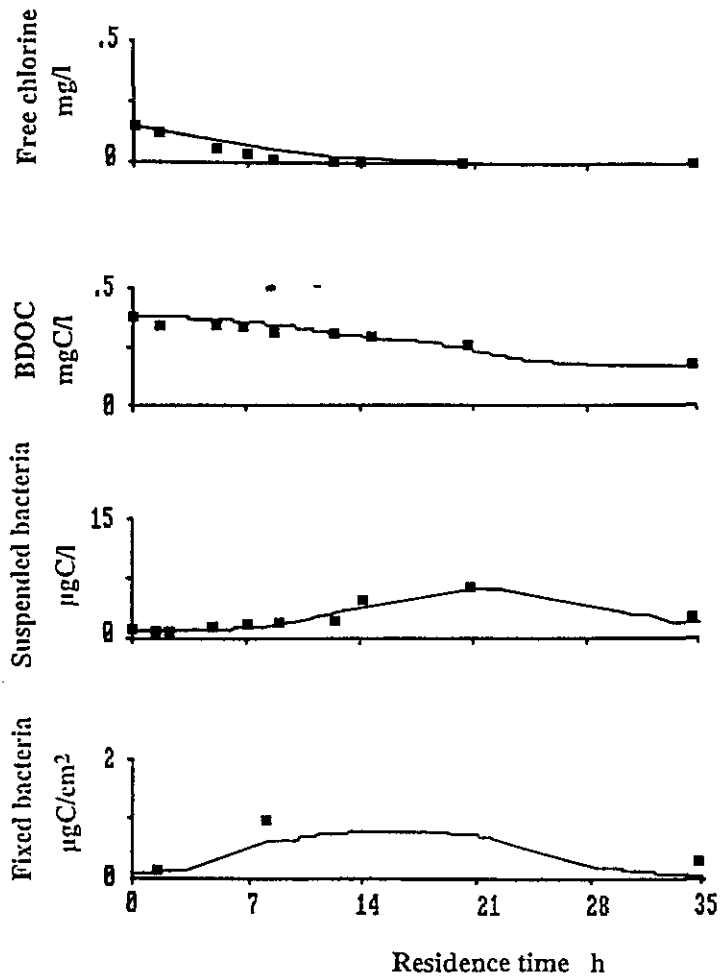


Figure 7 *Calculations by the* SANCHO *model of longitudinal variations of free chlorine concentrations, BDOC, suspended and fixed bacterial biomass in the Toulouse distribution system. Comparison with experimental data (■) (April, 1992).*

Calcul par le modèle SANCHO de l'évolution longitudinale du chlore libre, du CODB, de la biomasse bactérienne en suspension et fixée dans le réseau de distribution de Toulouse. Comparaison avec les résultats expérimentaux (■) (avril 1992).

was 0.3 mg C/l and the free chlorine residual was 1.05 mg Cl2, while in July 1993, these values were respectively 0.14 mg C/l and 0.25 mg Cl2/l. Here again the values of the parameters used for the model calculations were those presented in Tables 1, 2 and 3 and no adjustment was performed. Figures 8 and 9 show good agreement in both situations between experimental data and model calculations.

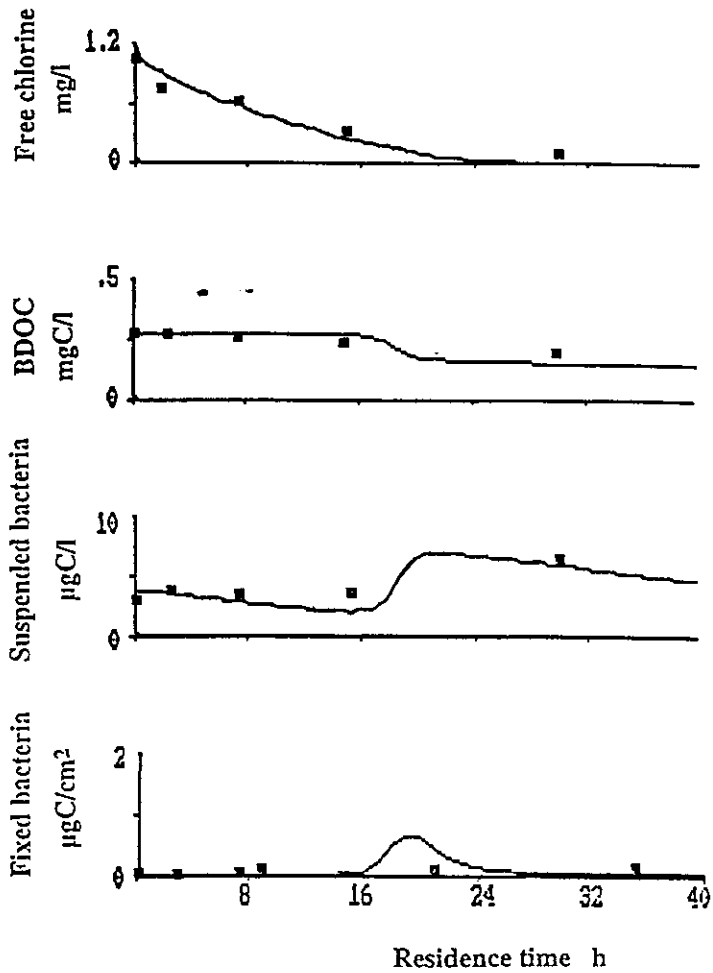


Figure 8 *Calculations by the* SANCHO *model of longitudinal variations of free chlorine concentrations, BDOC, suspended and fixed bacterial biomass in the Auvers-sur-Oise distribution system. Comparison with experimental data (■) (September, 1992).*

Calcul par le modèle SANCHO de l'évolution longitudinale du chlore libre, du CODB, de la biomasse bactérienne en suspension et fixée dans le réseau de distribution de Auvers-sur-Oise. Comparaison avec les résultats expérimentaux (■) (Septembre, 1992).

In order to statistically evaluate the model, data calculated by the model were plotted against experimental data for disinfectant, BDOC and suspended bacterial biomass. This analysis was not performed for the fixed bacterial biomass because the number of experimental data was insufficient. For the statistical analysis, the situations observed in the Toulouse distribution system

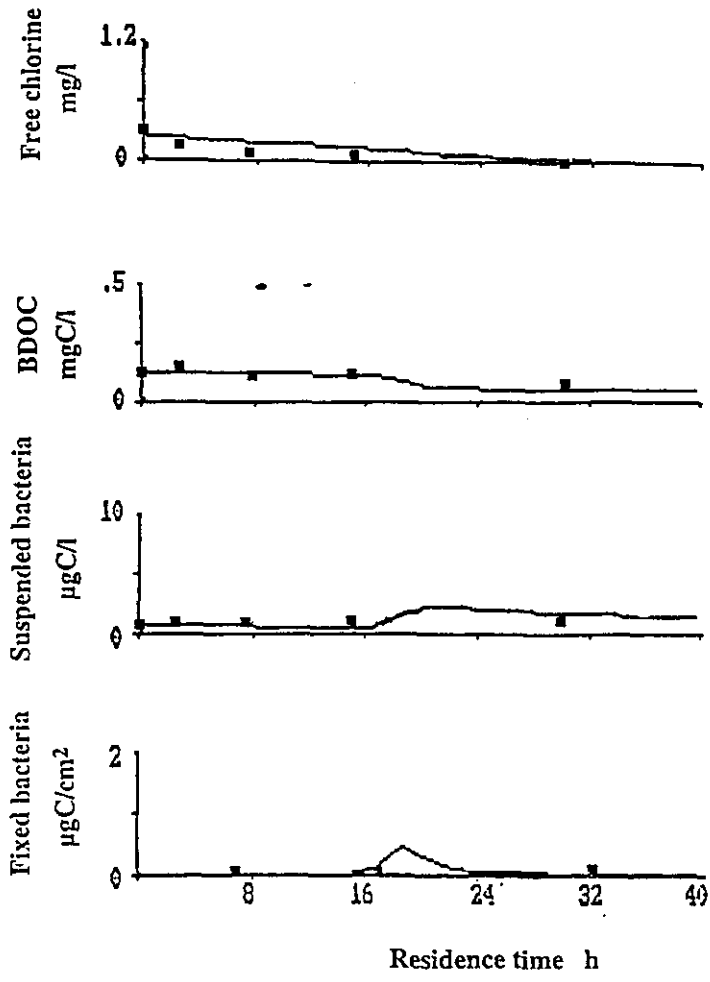


Figure 9 *Calculations by the* SANCHO *model of longitudianl variations of free chlorine concentrations, BDOC, suspended and fixed bacterial biomass in the Auvers-sur-Oise distribution system. Comparison with experimental data (■) (July, 1993).*

Calcul par le modèle SANCHO de l'évolution longitudinale du chlore libre, du CODB, de la biomasse bactérienne en suspension et fixée dans le réseau de distribution de Auvers-sur-Oise. Comparaison avec les résultats expérimentaux (■) (Juillet, 1993).

and the different sampling campaigns carried out on the Auvers-sur-Oise distribution system were taken into account. Table 4 presents the slopes of the regression straight lines passing through the origin and the correlation coefficients of these regressions. In the three cases, slopes of the regression are closed to 1 (in the range 0.91 to 1.1) indicating no systematic under-or

overestimation of the calculated values with respect to the observed values. The three correlation coefficients are statistically significant at 1%. This clearly indicates that calculated data are significantly correlated with the experimental observations.

Table 4 *Slopes of the regression straight lines passing through the origin obtained when plotting values calculated by the model on the Y axis against experimental values on the X axis for disinfectant, BDOC and suspended bacterial biomass. Numbers (n) of situations taken into account for the comparison and correlation coefficients of these straight lines are also listed in the table.*

Tableau 4 Pente des droites de régression forcées par l'origine obtenues en portant en Y les valeurs calculées par le modèle et en X les valeurs expérimentales mesurées pour les paramètres désinfectants, CODB et biomasse bactérienne en suspension. Les nombres (n) de situations pris en considération dans la comparaison ainsi que les coefficients de corrélation de ces droites sont également repris dans le tableau.

Parameters	n	Slopes	Correlation coefficients
Disinfectant	29	0.91	0.92 ($p < 0.01$)
BDOC	29	1.10	0.74 ($p < 0.01$)
Susp. Biomass	28	0.93	0.66 ($p < 0.01$)

The calculations of the model using similar values of the parameters, on different situations and on different networks, demonstrate that the SANCHO model is actually able to predict bacterial growth and BDOC decrease in distribution systems.

In this paper, two simple applications are presented as examples of the potential use of the model. In the first one, the effect of modifying chlorine level at the outlet of the plant (in the range 0 to 1 mg Cl_2/l) was tested for a water containing 0.6 mg C/l BDOC *(fig. 10)*. For the different concentrations, the maximum bacterial biomass reached (suspended or fixed) was quite similar. Only the position of the maximum bacterial biomass and the distance in the network where a significant biomass is observed are modified by chlorine concentration. These figures show that avoiding bacterial growth only using chlorine seems to require a very high concentration. The second example shows the effect of initial BDOC concentrations (0.1, 0.4 and 1 mg C/l) on bacterial dynamics in the distribution system; 0.3 mgCl_2/l as chlorine residual is used in the three simulations *(fig. 11)*. In this case, a clear decrease in the maximum of bacterial biomass is observed for decreasing BDOC. For the situation with 0.1 mg C/l of BDOC, the observed bacterial growth is insignificant. This result is in remarkable agreement with the value of 0.15 mg C/l BDOC, proposed by SERVAIS *et al.* (1993, 1995), as a maximum admissible for biologically stable water.

The SANCHO model offers the opportunity to investigate the impact of various factors (mainly BDOC concentration, disinfectant level, residence time,

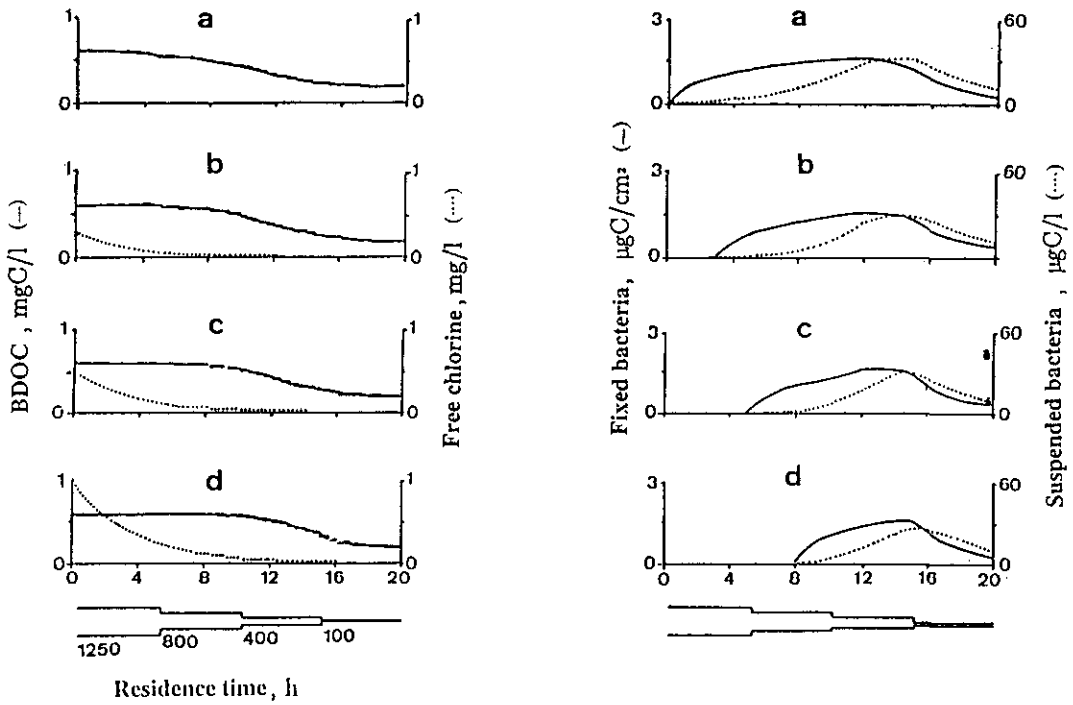


Figure 10 *Impact of chlorine concentration in treated water on bacterial dynamics in distribution systems (BDOC in treated water = 0.6 mg C/l, temperature = 20°C). Chlorine residual in finished water is respectively 0 (a), 0.3 (b), 0.5 (c), 1 (d) mg Cl_2/l.*

Impact de la concentration en chlore libre dans l'eau traitée sur la dynamique bactérienne dans un réseau de distribution (CODB dans l'eau traitée = 0,6 mg C/l, température = 20 °C). La concentration en chlore dans l'eau produite vaut respectivement 0 (a), 0,3 (b), 0,5 (c) et 1 (d) mg Cl_2/l.

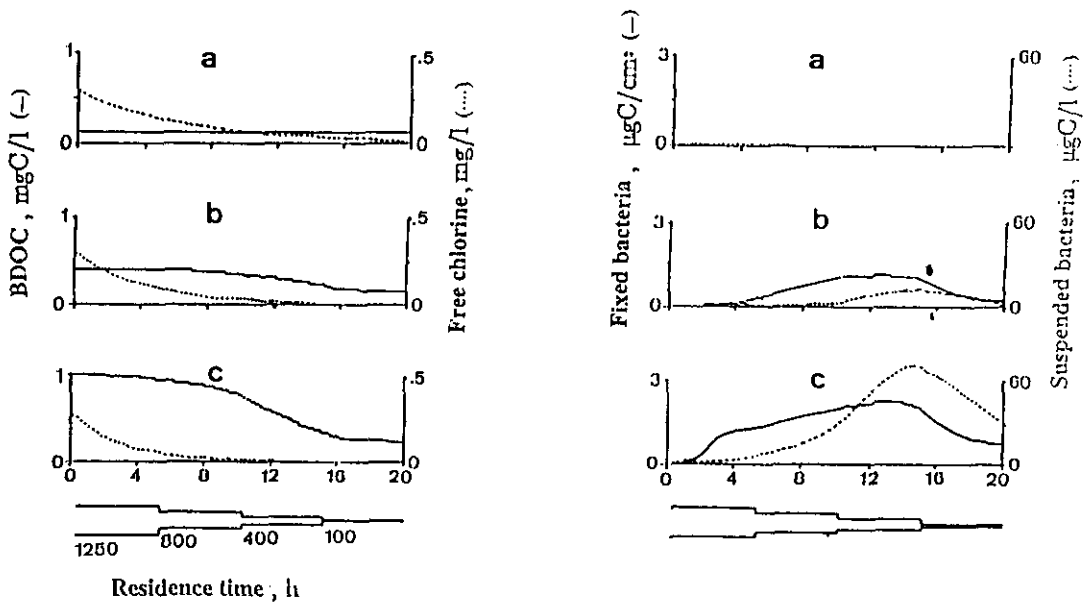


Figure 11 *Impact of BDOC concentration in treated water on bacterial dynamics in distribution systems (Cl_2 in treated water = 0.3 mg Cl_2/l, temperature = 20°C). BDOC in finished water is respectively 0.1 (a), 0.4 (b) and 1 (c) mg C/l.*

Impact du CODB dans l'eau refoulée sur la dynamique bactérienne dans un réseau de distribution (Cl_2 dans l'eau traitée = 0,3 mg Cl_2/l, température = 20 °C). Le CODB dans l'eau refoulée vaut respectivement 0,1 (a), 0,3 (b), 0,5 (c) et 1 (d) mg Cl_2/l.

temperature) on bacterial dynamics in distribution systems. It is very useful as similar experimental investigations in real scale distribution systems are very complicated and expensive. This model is therefore a useful tool for rational management of drinking water networks and treatment processes. For example, the model can be used to define the water quality required at the outlet of the plant to obtain a defined quality of water all along the distribution network.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was sponsored by the Syndicat des Eaux d'Ile de France. The authors thank the members of the Groupe Qualité Réseau (Compagnie Générale des Eaux) for their participation to the study and Mr. BAZER-BACHI for his help to the work carried out on the Toulouse distribution networks. Gilles BILLEN is Research Director of the Fonds National de la Recherche Scientifique (Belgium).

REFERENCES

See p. 461.

The following article, submitted in English by francophone authors, is published both in the original language and in French translation, according to the publication policy of the Journal of Water Science/Revue des Sciences de l'Eau. *Manuscripts in English from non-francophone authors are published in the original language only, preceded by an extended abstract (1000 words) in French.*

Les figures et tableaux de cet article sont présentées dans la version anglaise p. 427-448.

1 – INTRODUCTION

Un objectif important des microbiologistes en santé publique est d'assurer une eau potable de bonne qualité bactériologique. Dans ce contexte, un souci croissant parmi les microbiologistes de l'eau de consommation est la détérioration fréquente de la qualité de l'eau à cause de la croissance bactérienne dans les réseaux de distribution. L'augmentation de la quantité de bactéries peut être à l'origine de divers problèmes pour les producteurs et les consommateurs d'eau potable, incluant le développement d'une chaîne trophique menant à la croissance d'organismes supérieurs, la modification des caractéristiques de l'eau (turbidité, goût, odeur, couleur) et l'interférence avec la détection des indicateurs sanitaires.

Afin de limiter et de contrôler la multiplication bactérienne dans les réseaux de distribution, la plupart des usines de traitement d'eau utilise la désinfection par chloration. Une autre approche au contrôle de la croissance bactérienne dans les réseaux de distribution consiste en la limitation des sources de nutriments requises pour la croissance des bactéries hétérotrophes, *i.e.* le carbone organique dissous biodégradable (CODB).

Au cours des dernières années, différentes études ont été effectuées, à l'échelle réelle, dans des réseaux de distribution (SERVAIS *et al.*, 1992) et dans des systèmes pilotes (MATHIEU *et al.*, 1992 ; BLOCK, 1992), sur le rôle du CODB dans les réseaux de distribution. Sur la base des données expérimentales recueillies dans différents réseaux de distribution Français, SERVAIS *et al.* (1993) ont montré que le CODB retrouvé dans l'eau traitée est le principal facteur qui contrôle la dynamique bactérienne en l'absence d'un résiduel de chlore libre. Les différentes études concluent que le contrôle des matières organiques biodégradables demeure un des premiers objectifs à réaliser pour obtenir une eau biologiquement stable (MATHIEU *et al.*, 1992 ; VAN DER KOOIJ, 1992 ; SERVAIS *et al.*, 1993). Cette solution, en plus de diminuer la croissance bactérienne en limitant les sources nutritives, offre deux avantages supplémentaires : l'enlèvement initial de la matière organique réduit la formation de sous-produits de désinfection indésirables tels que les trihalométhanes (THM) lors de la chloration et aussi, accroît la stabilité du chlore résiduel dans le réseau de distribution en réduisant la demande en chlore.

Dans ce contexte, il est nécessaire de répondre à plusieurs questions importantes concernant l'impact des divers paramètres sur la croissance bactérienne (concentration de CODB, niveau de désinfection, temps de résidence, etc.) afin d'arriver à une gestion efficace des procédés de traitement et des réseaux de distribution. La dynamique bactérienne dans les réseaux de distribution est si complexe qu'un modèle mathématique constitue un outil utile pour étudier ces questions.

Sur la base d'expériences microbiologiques réalisées durant des études soutenues par le SEDIF (Syndicat des Eaux d'Ile de France) sur les réseaux

de distribution de la banlieue parisienne (SERVAIS *et al.*, 1992), un modèle de la dynamique des bactéries et du CODB dans les réseaux de distribution a été développé (le modèle SANCHO). Ce modèle calcule les gradients spatiaux, à l'équilibre, du CODB et des concentrations de chlore, de biomasse fixée et libre ; il considère le cas d'une masse d'eau s'écoulant durant des temps connus dans des conduites successives de diamètres réduits.

Dans la première partie de cet article, les cinétiques des différents processus considérés dans le modèle sont présentées et les valeurs employées pour les différents paramètres utilisés dans les équations, sont justifiées sur la base de données expérimentales.

Dans la deuxième partie, des comparaisons entre les données expérimentales et les données calculées par le modèle sont présentées pour deux réseaux de distribution français (Toulouse et Auvers-sur-Oise) afin de valider le modèle. Enfin, le modèle est employé pour prédire les variations de CODB et de biomasse bactérienne dans des systèmes de distribution alimentés par des eaux de qualité différente (effet de la teneur en CODB, chlore résiduel, dénombrement bactérien et température).

2 – MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Échantillonnage dans les réseaux de distribution

Afin de valider le modèle SANCHO, les données expérimentales recueillies de deux réseaux de distribution (Toulouse et Auvers-sur-Oise) ont été comparées avec des calculs de modélisation. Durant toutes les campagnes d'échantillonnage exécutées sur les deux réseaux, la température, les concentrations résiduelles de désinfectant, le CODB, l'abondance et la biomasse de bactéries libres ont été mesurés dans 15 à 25 échantillons d'eau. Afin d'estimer la biomasse fixée sur la surface intérieure des conduites, des pièces de fonte ont été incubées durant un mois, pour fin de colonisation, dans des dispositifs d'incubation en PVC alimentés directement par un apport continu d'eau provenant des réseaux de distribution. Les essais préliminaires ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre la biomasse fixée sur les pièces de fonte colonisées dans ce type de dispositif et celle se retrouvant sur la surface intérieure des conduites (SERVAIS *et al.*, 1993).

2.2 Méthode d'analyse

La fraction biodégradable de COD (CODB) a été déterminée selon la méthode expérimentale développée par SERVAIS *et al.* (1987, 1989a). Cette méthode consiste à mesurer la diminution du COD dans un échantillon d'eau inoculé avec des bactéries indigènes (1 % d'eau brute passant un filtre de 2 µm de porosité) durant une période d'incubation de 30 jours, à l'obscurité et à 20 °C. Le CODB a été calculé par la différence entre le COD au début et à la fin de la période d'incubation. Le carbone organique dissous (COD) a été mesuré sur un analyseur de carbone total Dohrmann DC - 180, utilisant une

oxydation au persulfate du carbone organique assistée aux ultraviolets, suivi par une détection spectrophotométrique en infrarouge du CO_2 obtenu par l'oxydation. La précision de la méthode a été estimée à ± 0,05 mg C/l (SERVAIS *et al.*, 1989a).

Dans le modèle SANCHO, le CODB est considéré comme composé de trois classes de composés ; H_1, les matières organiques macromoléculaires rapidement hydrolysables, H_2, les matières organiques macromoléculaires lentement hydrolysables et S, les substrats directement assimilables (voir la section 3.1). Afin de classer le CODB parmi les différents types de composés, H_1, H_2 et S, des expériences de croissance bactérienne en batch (495 ml d'eau traitée et filtrée sur 0,2 µm avec 5 ml d'eau brute filtrée sur 2 µm), ont été effectuées avec l'eau traitée. La détermination des trois classes a été basée sur la meilleure simulation des données expérimentales de biomasse bactérienne en utilisant le modèle HSB, décrit à la section 3.1, et adapté aux conditions de culture en batch (SERVAIS, 1986). Un exemple d'une telle détermination est présenté à la figure 1.

Le dénombrement bactérien a été effectué par microscopie à épifluorescence après coloration à l'acridine orange selon la méthode de HOBBIE *et al.* (1977). La taille des cellules a été estimée sur des agrandissements photographiques et la biomasse a été calculée à partir de l'abondance et de la distribution du biovolume en utilisant le facteur de conversion de biovolume en biomasse proposé par SIMON et AZAM (1989).

Afin d'estimer la biomasse de bactéries fixées, une nouvelle méthode basée sur la mesure du potentiel d'activité exoprotéolytique a été développée (SOMVILLE & BILLEN, 1983). On a démontré que cette mesure était proportionnelle à la biomasse bactérienne (BILLEN, 1991). Les mesures sont basées sur la détection d'un composé fluorescent (β-naphthylamine) (βN), lequel est produit après l'hydrolyse d'un substrat non-fluorescent (L-leucyl-β-naphthylamide) (LLβN) par les exoprotéases bactériennes. Un facteur de conversion de 6,58 µg C de biomasse bactérienne par nmole de βN par minute a été établi en comparant le potentiel d'activité exoprotéolytique de suspensions bactériennes avec la biomasse estimée par microscopie à épifluorescence tel que décrit à la section précédente (SERVAIS *et al.*, 1992). Un dispositif spécial d'incubation a été bâti pour incuber, en présence de LLβN, uniquement la surface de la pièce de fonte, qui a été en contact avec le courant d'eau. La limite de détection de cette méthode a été estimée à 0,02 µg C/cm^2. L'abondance des bactéries fixées a été calculée en divisant la biomasse fixée par le contenu moyen en carbone des bactéries.

3 – DÉVELOPPEMENT DU MODÈLE SANCHO

Le modèle développé, appelé SANCHO, a été adapté du modèle de filtration biologique sur charbon actif en grain (CAG) (modèle CHABROL) développé récemment par BILLEN *et al.* (1992). Une analogie existe effectivement entre

les processus survenant durant la progression de l'eau dans une conduite où des bactéries sont fixées aux parois, et ceux survenant durant la filtration sur un support solide. Les procédés pris en compte dans le modèle SANCHO sont les suivants *(fig.2)* :

(i) Les interactions entre les bactéries et la matière organique incluent l'hydrolyse exoenzymatique de la matière organique dissoute biodégradable par des bactéries, la croissance de bactéries fixées et libres sur les produits d'hydrolyse, ainsi que la mortalité bactérienne qui libère de la matière organique.

(ii) L'adsorption réversible et l'attachement biologique des bactéries sur la surface intérieure des conduites.

(iii) La consommation chimique du chlore libre et l'impact du chlore libre sur l'activité et la mortalité des bactéries fixées et libres.

Les cinétiques des processus fondamentaux impliqués dans le modèle SANCHO sont présentées dans les sections suivantes.

3.1 Interaction entre la matière organique et les bactéries

Un modèle général d'utilisation de la matière organique par la population de bactéries hétérotrophes dans des environnements aquatiques (le modèle HSB) a été établi sur la base des connaissances récentes acquises dans le domaine de l'écologie microbienne (SERVAIS, 1986 ; BILLEN & SERVAIS, 1989 ; SERVAIS & BILLEN, 1993). Il a été démontré que le facteur limitant l'utilisation de la matière organique complexe, présente dans l'eau surtout sous la forme de macromolécules, est l'hydrolyse enzymatique extracellulaire (BILLEN, 1991). L'hydrolyse exoenzymatique de macromolécules produit des substrats monomériques (S), tels que les acides aminés et les monosaccharides, lesquels sont rapidement assimilés et utilisés par les bactéries (B), selon une cinétique de type Michaelis-Menten :

$$\text{Utilisation directe du substrat} = b_{max} \frac{S}{S+K_s} B \qquad (1)$$

où :

b_{max} est le taux maximum d'utilisation du substrat par unité de biomasse bactérienne (h^{-1}) ;

K_s est la constante de demi-saturation du taux d'utilisation directe du substrat (mg C/l).

Une fraction constante Y de la quantité de substrats absorbés est utilisée pour la production de la biomasse et d'exopolymères, le restant du carbone étant respiré. Seulement une partie de la matière organique dissoute est sujette à l'hydrolyse exoenzymatique. Cette fraction dite biodégradable (CODB), peut être déterminée expérimentalement par la technique décrite à la section MATÉRIEL ET MÉTHODES. Une analyse approfondie de cette fraction biodégradable révèle qu'elle peut se diviser en deux classes de matières biodégradables, soit les rapidement (H_1) et lentement (H_2) hydrolysables, chacune obéissant aux cinétiques de Michaelis-Menten, avec ses paramètres propres.

$$\text{Taux d'hydrolyse exoenzymatique} = e_{i(max)} \frac{H_i}{H_i + K_{Hi}} B \qquad (2)$$

où :
$e_{i\ (max)}$est le taux maximum (1/h) d'hydrolyse exoenzymatique du CODB macromoléculaire de classe *i*, par unité de biomasse bactérienne ;
K_{H_i}est la constante correspondante de demi-saturation (mg C/l).

Dans le modèle HSB, la mortalité bactérienne est considérée comme obéissant à une cinétique de premier ordre par rapport à la biomasse bactérienne ; elle est caractérisée par une constante de premier ordre k_d exprimée en 1/h (SERVAIS *et al.*, 1985 ; 1989b).

La réponse directe à la température de l'activité et de la mortalité bactérienne est caractérisée par la fonction sigmoïdale :

$$Act(T) = Act(T_{opt})\exp-\left[(T_{opt} - T)^2 / \sigma\right] \quad (3)$$

avec :
Ttempérature *in situ* ;
T_{opt}température à laquelle l'activité bactérienne est maximale ;
σ étendue de la fonction sigmoïdale.

Comme la réponse physiologique directe et l'adaptation graduelle de la communauté aux lents changements de température saisonniers doivent être considérées, la relation suivante de température pour les paramètres T_{opt} et σ sera utilisée (BILLEN *et al.*, 1992) :

$$T_{opt}(T) = 40 - (20 - T)/2 \quad (°C) \quad (4)$$

$$\sigma(T) = 18 - (20 - T)/2 \quad (°C) \quad (5)$$

Les valeurs des paramètres employées dans le modèle SANCHO sont énumérées au tableau 1 ; ils résultent des déterminations antérieures présentées par BILLEN & SERVAIS (1989). Pour e_{1max}, e_{2max}, b_{max} et k_d, les valeurs à la température T sont recalculées à partir de la valeur à 20 °C donnée dans le tableau 1 en multipliant la valeur à 20 °C par le rapport Act (T)/Act (20). Les termes Act (T) et Act (20) sont tous deux calculés à partir de l'équation 3.

3.2 Interactions entre les bactéries et la surface intérieure des conduits

L'attachement des bactéries sur un support solide est connu pour impliquer deux processus fondamentalement différents (FLETCHER, 1980 ; MARSHALL & BITTON, 1980) :

(i) un processus rapide et réversible d'adsorption physico-chimique ;

(ii) un processus biologique lent et irréversible impliquant la sécrétion active de polysaccharides par les bactéries.

La théorie de LANGMUIR a été utilisée pour décrire les cinétiques du processus d'adsorption/désorption. Elle suppose que le taux d'adsorption bactérienne sur le support est proportionnel à la concentration des bactéries (B_3) dans la phase liquide et à la concentration de sites libres d'adsorption sur le support. Ce terme équivaut à la différence entre la capacité maximum d'adsorption (SB) du support et la concentration de bactéries adsorbées (B_2) :

$$\text{taux d'adsorption initial} = k_{ads}B_3(SB - B_2) \quad (6)$$

où :
k_{ads} est la constante d'adsorption des bactéries sur le support, ce qui implique que lorsque l'adsorption bactérienne s'effectue sur un support vierge, le taux d'adsorption initial peut être défini par l'équation :

$$\text{taux d'adsorption initial} = k_{ads} \cdot B_3 \cdot SB \tag{7}$$

Par ailleurs, la désorption est considérée comme une réaction de premier ordre par rapport à la concentration des sites d'adsorption occupés :

$$\text{taux de désorption} = k_{des} \cdot B_2 \tag{8}$$

où :
k_{des} est la constante du taux de désorption des bactéries du support. L'état d'équilibre est atteint quand les taux d'adsorption et de désorption sont égaux, *i.e.* quand

$$B_2 = SB \frac{B_3}{(k_{des}/k_{ads}) + B_3} \tag{9}$$

Le taux d'adsorption initial et les concentrations de bactéries adsorbées et en suspension à l'équilibre ont été déterminés expérimentalement plusieurs fois pour différentes concentrations initiales de bactéries libres.

À cette fin, des cultures bactériennes marquées radioactivement ont été employées ; celles-ci ont été obtenues en enrichissant l'eau de robinet avec 500 mg/l d'extrait de levure, et en l'incubant à 20 °C pendant 24 h en présence de 20 nM ^{3}H-thymidine (40-40 Ci/mmol) et en la dialysant ensuite pour enlever l'excès d'éléments nutritifs et de radioactivité.

De petits volumes d'une dilution de cette culture ont été mis en contact sous une légère agitation avec des morceaux vierges de fonte. Des échantillons de la phase liquide ont été recueillis à des intervalles de quelques heures. Le taux initial d'adsorption bactérienne et la valeur d'équilibre de l'adsorption ont pu être établis à partir de ces résultats. Les bactéries adsorbées à l'équilibre ont été comparées à celles maintenues en suspension ; ainsi à l'aide de l'équation (9), la valeur de SB et le rapport k_{des}/k_{ads} ont été déterminés. Les taux d'adsorption initiaux ont aussi été comparés avec l'abondance de bactéries libres. Tel que démontré par l'équation (7), la pente de la régression linéaire est égale à SB · k_{ads}. Les valeurs de SB, k_{ads} et k_{des} peuvent ainsi être calculées à partir de ces résultats. Des exemples de détermination de SB, k_{ads} et k_{des} sont donnés aux figures 3 et 4.

Les valeurs employées dans le modèle, des paramètres d'adsorption/désorption obtenues pour les pièces de fonte sont reprises au tableau 2. Puisque tous les calculs dans le modèle sont effectués en unités de biomasse, les valeurs sont données dans le tableau en unités de biomasse (µg C/cm^2) plutôt qu'en abondance de bactéries (cellules/cm^2). La conversion est réalisée en utilisant un facteur de conversion dépendant du biovolume comme décrit à la section MATÉRIEL ET MÉTHODES.

Un processus biologique lent et irréversible impliquant la sécrétion active par les bactéries de polysaccharides est aussi pris en compte dans le modèle. La fixation biologique résulte de la croissance des bactéries adsorbées ou

fixées sur des sites où la fixation est possible. Or, dans les réseaux de distribution étudiés, la biomasse bactérienne fixée ne dépassait jamais 2 µg C/cm^2 (SERVAIS *et al.*, 1993), ce qui fait que la constitution d'un biofilm recouvrant toute la surface intérieure des conduites n'a pu être observée. Nous avons fait l'hypothèse, qui n'est pas nécessairement valable dans tous les cas, que tout se produisait comme s'il existait une capacité maximale d'attachement de la biomasse bactérienne (SP) pour un support donné, qui correspondrait à l'existence de sites protégés de la turbulence de l'eau. Il a donc été supposé que le taux d'accroissement de la biomasse bactérienne (B_1) dépend du taux de croissance des bactéries adsorbées et préalablement fixées, en proportion à l'espace restant disponible sur les "*sites protégés*" (SP-B_1/SP). La fraction de la production de B_1 et B_2, qui ne peut pas trouver d'emplacements sur ses sites, produit des bactéries libres dans l'eau interstitielle (B_3). Dans le modèle, SP a été fixé à 2 µg C/cm^2.

3.3 Dynamique du chlore et impact du chlore sur les bactéries

3.3.1 Dynamique du chlore

La présence de chlore dans l'eau traitée est un facteur important de contrôle de la dynamique bactérienne dans le réseau. Le modèle SANCHO tient compte des deux processus responsables de la consommation du chlore dans le système de distribution et de l'impact du chlore libre sur l'activité et la mortalité bactérienne.

Les travaux de JADAS-HECART *et al.* (1992) montrent que le taux de consommation du chlore, après une phase initiale de demande rapide (qui est satisfaite durant le stockage initial de l'eau après la chloration et avant la déchloration et l'injection dans le système de distribution), suit une cinétique de premier ordre par rapport à la concentration en chlore (Cl_2) et à la demande totale en chlore (DCL) :

$$\frac{dCl_2}{dt} = -k \cdot Cl_2 \cdot DCL \qquad (10)$$

Dans la phase liquide, la demande totale en chlore est attribuable au COD. Une étude bibliographique sur les eaux d'Amérique du Nord et de France (JADAS-HECART, 1989) indique que la demande en chlore total se situe entre 1 à 3 mg Cl_2/mg COD. La demande en chlore diminue progressivement au fur et à mesure que le chlore réagit avec la matière organique selon la relation suivante :

$$\frac{dDCL}{dt} = -k \cdot Cl_2 \cdot DCL \qquad (11)$$

La demande totale initiale en chlore (DCL_o) est égale à :

$$DCL_o = bCODB \cdot CODB + bRCOD \cdot RCOD \qquad (12)$$

où bCODB et bRCOR sont, respectivement, la demande totale en chlore associée au carbone organique dissous biodégradable (CODB) et au carbone organique dissous réfractaire (RDOC).

Les valeurs de constante cinétique de premier ordre (k), de la demande totale en chlore de CODB (bCODB) et de RDOC (bRDOC) ont été déterminées expérimentalement en suivant la diminution de la concentration de chlore lors d'expériences menées en batch.

La contribution de la biomasse bactérienne fixée sur les surfaces intérieures des conduites à la consommation de chlore a été prise en compte en utilisant le même type de relation que l'équation 12. Nous avons considéré que la demande en chlore de la biomasse fixée était égale à la demande en chlore associée au CODB (bCODB).

L'effet de la température sur la constante k et sur la demande totale en chlore a été mis en évidence par JADAS-HECART *et al.* (1992) et peut être décrit par des relations exponentielles.

3.3.2 Impact du chlore sur l'activité et la mortalité

L'impact du chlore sur l'activité des bactéries fixées et libres a aussi été étudié. Pour ce qui est des bactéries en suspension, l'activité des bactéries indigènes a été mesurée par la méthode d'incorporation de ^{3}H-thymidine après l'addition de diverses quantités de chlore. Pour les bactéries fixées, la consommation d'oxygène par les bactéries fixées aux morceaux de fonte a été mesurée à différentes concentrations de chlore. Les résultats obtenus sont présentés à la figure 5. Dans les deux cas, l'effet du chlore peut être représenté par l'équation suivante qui est une relation exponentielle décroissante avec un seuil :

$$Act(Cl_2) = Act(0)\exp\left[-\left(\frac{Cl_2 - Clm}{dCl}\right)\right] \qquad (13)$$

où :
Clm est le seuil au-dessus duquel un effet du chlore sur l'activité bactérienne est observé (0,03 mg $Cl_2 \cdot l^{-1}$ pour les bactéries en suspension and 0,1 mg $Cl_2 . l^{-1}$ pour les bactéries fixées) ;
dCl est une concentration caractéristique de chlore définissant le taux de diminution de l'activité bactérienne avec l'augmentation des concentrations en chlore.

Les expériences montrent que les bactéries fixées sont un peu plus résistantes à l'action du chlore libre. Certains auteurs suggèrent que la présence de polymères extracellulaires offre une protection contre le chlore aux bactéries fixées (VAN DER WENDE *et al.*, 1989 ; LECHEVALLIER *et al.*, 1990). Dans le cas de notre expérience, la différence de sensibilité entre les bactéries en suspension et celles fixées était néanmoins très faible. Les valeurs de Clm et dCL pour les bactéries fixées et en suspension sont données au tableau 3.

Le modèle SANCHO considère aussi une relation de dépendance de la mortalité bactérienne attribuable à la lyse des cellules en présence de chlore. Cette mortalité supplémentaire s'accroît avec l'augmentation du chlore selon une relation opposée à celle décrivant l'impact de chlore sur l'activité bactérienne. La constante de premier ordre de mortalité bactérienne considérée dans le modèle est la somme d'un terme indépendant de la concentration en chlore (k_d) et d'un terme dépendant de la concentration de chlore égal à :

$$kdcl \cdot \exp\left[-\left(\frac{cl_2 - Clm}{dcl}\right)\right] \quad (14)$$

avec kdcl égal à 0,01 h^{-1}.

4 – CALCULS ET PRÉDICTIONS DU MODÈLE SANCHO

Les équations décrivant les variations des sept variables du modèle (H_1, H_2, S, B_1, B_2, B_3, Cl_2) ont été écrites à partir des descriptions précédentes des cinétiques des processus fondamentaux impliqués dans le modèle SANCHO. Ces équations, qui sont l'expression des bilans de masse pour chacune des variables, dans chaque portion du système de distribution, sont très similaires à celles présentées en détail par BILLEN *et al.* (1992) pour le modèle de filtration biologique (le modèle CHABROL). L'utilisation du modèle requiert la connaissance de la valeur de certaines variables (H_1, H_2, S, B_3, Cl_2) dans l'eau alimentant le système de distribution.

En utilisant les valeurs initiales de matières organiques, de biomasse en suspension et de chlore libre, le modèle SANCHO calcule les variations spatiales de CODB et de concentrations de chlore, ainsi que de la biomasse bactérienne fixée et libre sous des conditions hydrauliques constantes. Ce calcul s'effectue pour une masse d'eau circulant durant des temps connus dans des canalisations de diamètres décroissants.

Un exemple de calcul du modèle est présenté à la figure 6. Il concerne une eau alimentant le réseau contenant 0,3 mg C/l de CODB et 0,3 mg Cl_2/l de chlore résiduel ; le modèle calcule les variations des différents paramètres quand l'eau s'écoule durant 20 heures successivement dans des conduites de 1 250 mm de diamètre (5 h), 800 mm (5 h), 400 mm (5 h) et 100 mm (5 h). Trois tronçons successifs peuvent être distingués dans cet exemple : dans le premier (0 à 4 h), le développement d'un biofilm est très limité parce que le niveau de chlore maintient le taux de croissance bactérienne très bas. Le CODB n'est pas biodégradé significativement ; dans le second (4 à 16 h), la concentration de chlore décroît et ainsi l'inhibition de l'activité bactérienne diminue. La biomasse bactérienne libre et fixée s'accroît tandis qu'une fraction significative du CODB est consommée ; dans le dernier (> 16 h), aucune diminution supplémentaire du CODB n'est observée et une diminution de la biomasse bactérienne est observée parce que la mortalité bactérienne excède sa croissance.

Afin de comparer les résultats expérimentaux avec les données calculées par le modèle SANCHO, la connaissance du temps de résidence de l'eau dans les différentes conduites avant d'atteindre un point d'échantillonnage est requise.

Le réseau de distribution de Toulouse a été étudié en Avril 1992 afin de valider le modèle. Pour ce réseau de distribution assez simple, un logiciel a auparavant été développé pour estimer le temps de résidence de l'eau aux

différentes stations du réseau (BAZER-BACHI, communication personnelle). Le réseau de distribution de Toulouse est alimenté par l'usine de traitement de Clairfont. Les eaux de la Garonne approvisionne l'usine et le traitement inclus la préchloration, la floculation-décantation, la filtration sur sable, l'ozonation suivis par la désinfection finale. Le CODB était autour de 0,4 mg C/l dans l'eau ainsi traitée lors de nos mesures.

La figure 7 présente la comparaison entre les données expérimentales et les calculs du modèle pour huit points d'échantillonnage dans le réseau de distribution de Toulouse. Pour les calculs exécutés par le modèle SANCHO, les valeurs des paramètres employées sont celles présentées aux tableaux 1, 2 et 3. Ceci signifie qu'il n'y a aucun ajustement des valeurs de paramètres afin de simuler correctement les données expérimentales. Le niveau général et les tendances des variations de chacune des variables (Cl_2, CODB, biomasse bactérienne libre et fixée) calculés par le modèle montrent une bonne concordance avec les observations expérimentales.

Des comparaisons similaires ont été effectuées pour le réseau de distribution de Auvers-sur-Oise. Pour ce réseau de distribution, le modèle hydraulique de SWS-STONER a été utilisé pour estimer le temps de résidence de l'eau à différentes stations du réseau. Le système de distribution de Auvers-sur-Oise a été étudié en Septembre 1992 et Juillet 1993. Jusqu'à Février 1993, ce réseau a été alimenté par l'usine de traitement de Méry-sur-Oise, où une ozonation et une filtration biologique CAG ont été employées en plus du prétraitement et de la filtration sur sable (le CODB dans l'effluent de l'usine était autour 0,3 mg C/l). Le réseau a ensuite été alimenté par un mélange de 20 % d'eau du traitement classique (de l'usine de traitement de Méry-sur-Oise) et de 80 % d'eau filtrée sur une unité pilote de nanofiltration (KOPP *et al.*, 1993). Le niveau de CODB était alors autour 0,15 mg C/l dans l'eau traitée.

La figure 8 présente une comparaison des données mesurées et calculées quand le réseau de Auvers-sur-Oise était alimenté par l'usine de traitement de Méry-sur-Oise (Septembre, 1992). La figure 9 présente le même calcul pour une situation où ce réseau était alimenté par un mélange de 80 % d'eau filtrée par une unité pilote de nanofiltration et 20 % d'eau de l'usine de traitement de Méry-sur-Oise (Juillet, 1993). Les deux situations sont très différentes quant à la qualité de l'eau entrant dans le réseau de distribution ; en Septembre 1992, le niveau de CODB était de 0,3 mg C/l et le chlore libre résiduel était de 1,05 mg Cl_2, tandis qu'en Juillet 1993, ces valeurs étaient respectivement de 0,14 mg C/l et 0,25 mg Cl_2/l. Ici encore les valeurs des paramètres employées pour les calculs du modèle sont celles présentées aux tableaux 1, 2 et 3 et aucun ajustement n'a été effectué. Les figures 8 et 9 montrent un bon accord entre les données expérimentales et les calculs du modèle, et ce pour les deux situations.

De façon à évaluer statistiquement le modèle, les données calculées par le modèle ont été comparées aux données expérimentales pour le désinfectant, le CODB et la biomasse bactérienne en suspension. Cette analyse n'a pas été effectuée pour la biomasse bactérienne fixée parce que le nombre de données expérimentales était insuffisant. Pour l'analyse statistique, les situations observées dans le réseau de distribution de Toulouse et les différentes

campagnes d'échantillonnage menées sur le réseau de distribution de Auvers-sur-Oise ont été prises en compte. Le tableau 4 présente les pentes des régressions linéaires passant par l'origine et les coefficients de corrélation de ces régressions. Dans les trois cas, les pentes de la régression se rapprochent de 1 (dans la gamme 0,91 à 1,1) indiquant ainsi qu'il n'y a pas de sous ou de sur-estimation systématique des valeurs calculées relativement aux valeurs observées. Les trois coefficients de corrélation sont statistiquement significatifs à 1 %. Cela indique clairement que les données calculées correspondent bien aux observations expérimentales.

Les calculs du modèle utilisant des valeurs similaires de paramètres, sur des situations différentes et sur des réseaux différents, démontrent que le modèle SANCHO est réellement capable de prédire la croissance bactérienne et la diminution du CODB dans des réseaux de distribution.

Dans cet article, deux applications simples ont été décrites comme exemples de l'utilisation potentielle du présent modèle. Dans le premier cas, l'effet d'une modification du niveau de chlore à la sortie de l'usine de traitement (dans la gamme 0 à 1 mg Cl_2/l) a été évalué pour une eau contenant 0,6 mg C/l de CODB *(fig. 10)*. Pour des concentrations différentes en chlore, la biomasse bactérienne maximum atteinte (libre ou fixée) était assez similaire. Seulement la position du maximum de biomasse bactérienne et la distance dans le réseau où une biomasse significative est observée sont modifiées par la concentration de chlore. Ces observations montrent que limiter la croissance bactérienne en utilisant seulement du chlore semble requérir des concentrations très élevées au chlore.

Le deuxième exemple montre l'effet de diverses concentrations initiales de CODB (0,1, 0,4 et 1 mg C/l) sur la dynamique bactérienne dans le réseau de distribution ; les trois simulations sont réalisées pour une teneur en chlore de 0,3 mgCl_2/l dans l'eau alimentant le réseau. Dans ce cas, une diminution évidente du maximum de biomasse bactérienne est observée avec la réduction du CODB. Pour la situation avec 0,1 mg C/l de CODB, la croissance bactérienne observée est insignifiante. Ce résultat s'accorde de façon remarquable avec la valeur de 0,15 mg C/l de CODB, proposée par SERVAIS *et al.* (1993, 1995), comme un maximum admissible pour l'obtention d'une eau biologiquement stable.

Le modèle SANCHO offre l'occasion d'étudier l'impact de divers facteurs (essentiellement la concentration de CODB, le niveau de désinfectant, le temps de résidence et la température) sur la dynamique bactérienne dans les systèmes de distribution. Il est très utile puisque des études expérimentales similaires dans des réseaux de distribution à l'échelle réelle sont très compliquées et coûteuses. Ce modèle constitue donc un outil utile pour la gestion rationnelle des réseaux d'eau potable et des procédés de traitement. Par exemple, le modèle peut être employé pour définir la qualité d'eau requise à la sortie de l'usine de traitement d'eau afin d'obtenir une qualité souhaitée de l'eau tout au long du réseau de distribution.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été parrainé par le Syndicat des Eaux d'Ile de France. Les auteurs remercient les membres du Groupe Qualité Réseau (Compagnie Générale des Eaux) pour leur participation à l'étude et M. BAZER-BACHI pour son aide au travail exécuté sur le réseau de distribution de Toulouse. Gilles BILLEN est Directeur de Recherche au Fonds National de la Recherche Scientifique (Belgique).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BILLEN G. , SERVAIS P., 1989. Modélisation des processus de dégradation bactérienne de la matière organique en milieu aquatique. *In : Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques.* Bianchi et coll. Masson. p. 219-245.

BILLEN G., 1991. Protein degradation in Aquatic Environments. *In: Microbial Enzymes in Aquatic Environments.* R. Chrost, ed., Springer Verlag, Berlin, pp. 123-143.

BILLEN G. , SERVAIS P., VENTRESQUE C. , BOUILLOT P., 1992. Functioning of biological filters used in drinking water treatment: the CHABROL model, *Aqua, 41*: 231-241.

BLOCK J.C., 1992. Biofilms in drinking water distribution systems. *In: Biofilms - Science and Technology.* Boh, T.R., Melo, L., Fletcher, M. & Capdeville, B, ed., p. 469-485.

FLETCHER M., 1980. The question of passive versus active attachment mechanisms in non specific bacterial adhesion. *In: Microbial adhesion to surfaces.* BEKELEY *et al.*, ed. Ellis Horwood, USA, pp. 197-210.

HOBBIE J.E., DALEY R.J., JASPERS S., 1977. Use of Nuclepore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol., 33*: 1225-1228.

JADAS-HECART A., 1989. Contribution à l'étude de la demande en chlore à long terme d'une eau potable. Modélisation et identification des précurseurs organiques. Université de Poitiers, Ph. D. Thesis.

JADAS-HECART A., EL MORER A., STITOU M., BOUILLOT P., LEGUBE B., 1992. Modélisation de la demande en chlore d'eau traitée. *Wat. Res, 26(8)* : 1073-1084.

LECHEVALLIER M.W., LOWRY C.D., LEE R.G., 1990 Disinfecting biofilms in a model distribution system. *JAWWA, 82* (7): 88-99.

KOPP V., TANGHE N., FAIVRE M., 1993. Tertiary refining by nanofiltration of surface water in the Paris region. *Water Supply, 11* (3/4): 271-280.

MARSHALL K.C., BITTON G., 1980. Microbial adhesion in perspective. *In: Adsorption of micro-organisms to surfaces*, K.D. Marshall & G. Bitton, eds., Wiley Interscience, USA, 439 p.

MATHIEU L., PAQUIN J.L., BLOCK J.C., RANDON G., MAILLARD J., REASONER D., 1992. Paramètres gouvernant la prolifération bactérienne dans les réseaux de distribution d'eau. *Revue des Sciences de l'Eau, 5* : 91-112.

SERVAIS P., BILLEN G., VIVES-REGO J., 1985. Rate of bacterial mortality in aquatic environments. *Appl. Environ. Microbiol., 49*: 1448-1454.

SERVAIS P., 1986. Etude de la dégradation de la matière organique par les bactéries hétérotrophes en rivière. Développement d'une démarche méthodologique et application à la Meuse belge. Université Libre de Bruxelles, Thésis, 271 p.

SERVAIS P., BILLEN G., HASCOET M.C., 1987. Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters, *Wat. Res., 21*: 445-450.

SERVAIS P., ANZIL A., VENTRESQUE C., 1989a. A simple method for the determination of biodegradable dissolved organic carbon in water. *Appl. Environ. Microbiol., 55*: 2732- 2734.

SERVAIS P., BILLEN G., MARTINEZ J., VIVES-REGO J., 1989b. Estimating bacterial mortality by the disappearance of ^{3}H-labelled intracellular DNA. Technical validation and field measurements. *FEMS Microbiol. Ecol., 62* : 119-126.

SERVAIS P., BILLEN G., LAURENT P., LEVI Y., RANDON G., 1992. Studies of BDOC and bacterial dynamics in the drinking water distribution system of the Northern Parisian Suburbs. *Rev. Sci. Eau, 5* : 69-89.

SERVAIS P., BILLEN G., 1993. Dynamics of heterotrophic bacteria in aquatic systems: The HSB model. *In: Trends in Microbial Ecology*, R. Guerrero & J. Pedros-Alio, eds., p. 397-400.

SERVAIS P., LAURENT P., RANDON G., 1993. Impact of biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) on bacterial dynamics in distribution systems. *American Water Works Association*, W.Q.T.C.-Proceedings, p. 963-980.

SERVAIS P., LAURENT P., RANDON G., 1995. Comparison of the bacterial dynamics in various French distribution systems, *Aqua. 44*(1): 10-17.

SIMON M., AZAM F., 1989. Protein content and protein synthesis rates of planktonic marine bacteria. *Mar. Ecol. Progr. Ser. 51*: 201-213

SOMVILLE M., BILLEN G., 1983. A method for determination of exoproteolytic activity in natural waters. *Limnol. Oceanogr. 28*: 190-193.

VAN DER KOOIJ D. 1992. Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. *JAWWA, 84* (2): 57-65.

VAN DER WENDE R., CHARACKLIS W.G., SMITH D.B., 1989. Biofilms and bacterial drinking water quality. *Water Res., 23*: 1313-1322.