

# Paramètres gouvernant la prolifération bactérienne dans les réseaux de distribution

## Parameters governing bacterial growth in water distribution systems

L. Mathieu, J. L. Paquin, J. G. Block, C. Randon,, J. Maillard and D. Reasoner

Volume 5, Special Issue, 1992

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/705155ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/705155ar>

[See table of contents](#)

Publisher(s)

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

ISSN

0992-7158 (print)

1718-8598 (digital)

[Explore this journal](#)

Cite this article

Mathieu, L., Paquin, J. L., Block, J. G., Randon, C., Maillard, J. & Reasoner, D. (1992). Paramètres gouvernant la prolifération bactérienne dans les réseaux de distribution. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 5, 91–112. <https://doi.org/10.7202/705155ar>

### Article abstract

This study was carried out in order to evaluate the variations in the physicochemical characteristics of the water in an experimental distribution system.

The primary objectives of the study were :

- to compare the disinfectant efficiency of chlorine and monochloramine
- to establish quantitative correlations among bacterial density, concentration of residual disinfectant, and concentration of biodegradable organic matter.

The finished waters were obtained from a water treatment pilot plant characterized by : prechlorination (average treatment rate : 1.4 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> and residual after sand filtration : 0.08 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>), coagulation-flocculation-sedimentation (FeCl<sub>3</sub> treatment rate : 30 to 60 mg l<sup>-1</sup> adjusted to the raw water turbidity below 0.3 NTU), sand filtration (filtration rate : 6 h<sup>-1</sup>) and post-disinfection with chloramine (average treatment rate : 1.8 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>) or chloramine (average treatment rate : 1.66 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>). The concentrations of post-disinfectant used were chosen in order to maintain chlorine at 0.2 to 0.5 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> and monochloramine at 1 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> after the first 24 hours residence time in the experimental distribution system.

The experimental distribution system is composed of three parallel loops connected in series (31 m length, 100 mm diameter, cement lined cast iron, water velocity : 1 m s<sup>-1</sup>). The configuration and operation of the system permitted a residence time of 24 hours in each loop (that is 72 hours for the whole system). Appropriate sample tap locations facilitated removal of bulk water samples. Special sampling parts also permitted sampling of cement coupons for determination of attached biofilm.

The measured parameters were : residual oxidant (DPD method), DOC, BDOC (28 days of incubation at 28 °C with a bacterial inoculum), cell density in the bulk water phase (CFU ml<sup>-1</sup>) and in the biofilm (CFU cm<sup>-2</sup>) after 15 days of incubation at 20-22 °C. Total cells were enumerated using the epifluorescence direct count technique.

For each experiment, all the sampling sequences were carried out on each of three days, after quasi steady-state was achieved in the system (4 to 6 weeks after starting each experiment). The data were analysed in order to characterize the treated and distributed waters; the results discussed here are based on the averages of the measured parameters from the water samples and biofilm samples taken after the system achieved quasi steady-state.

### Characteristics of the treated waters

The treated waters were characterized by important variations at the DOC, BDOC and cell density. For example, the concentrations of DOC showed a seasonal variation ranging from 0.8 to 1.3 mg Cl<sup>-1</sup> in winter to 1.6 to 2.6 mg Cl<sup>-1</sup> in summer.

The treated waters contained approximately the same concentrations of residual disinfectant, averaging 1.6 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> for chlorine and 1.5 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> for monochloramine.

However, a significant difference cell density was found between the two post-disinfectants. Cell densities by the epifluorescence direct count technique were 1.6 x 10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup> (0.3 % of CFU ml<sup>-1</sup>) with chlorine and 6.3 x 10<sup>6</sup> ml<sup>-1</sup> (0.03 % of CFU ml<sup>-1</sup>) with monochloramine. The difference on cell density between the post-chlorination and the post-chloramination treatments has been observed systematically, and may be explained either as cellular lysis with chlorine or an interference when using epifluorescence counting for chlorinated waters.

### Characteristics of the distributed waters

Whatever the season, depletion of oxidant (chlorine or monochloramine), and elimination of dissolved organic matter (DOC, BDOC) occurred during the first hours of circulation of water in the distribution system. The net result was an increase in bacterial cell density.

During the first hours of circulation of the waters in the distribution system, depletion of the disinfectant occurred. Depletion was more rapid for chlorine (-0.05 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) than for monochloramine (-0.02 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), which is considered more stable than chlorine.

Even in the presence of a residual disinfectant in the distribution system, microorganisms are present in the water phase (10<sup>4</sup> to 10<sup>6</sup> cells ml<sup>-1</sup> by epifluorescence direct count; 1 % CFU ml<sup>-1</sup> after 15 days of incubation at 20-22 °C) and in the biofilm (10<sup>5</sup> to 10<sup>6</sup> cells cm<sup>-2</sup> by epifluorescence direct count; 1 % CFU ml<sup>-1</sup> after 15 days of incubation at 20-22 °C). The bacterial density increased while the disinfectant residual decreased. The apparent growth rate of the attached biomass (µfix) in loop 2 of the chlorinated distribution system (equivalent to 48 hours detention), was close to the µfix calculated for loop 2 of the chloraminated distribution system : the values were 0.0043 h<sup>-1</sup> and 0.005 h<sup>-1</sup> respectively.

In addition, the change in the organic matter (expressed as DOC) occurred in two steps :

- a slight increase in DOC during the 24 first hours of residence time (loop 1), when increased residual disinfectant were present.
- a bacterial consumption of DOC after 24 hours of residence time (loops 2 and 3), even in the presence of small concentrations of disinfectants.

In loop 2 (48 hours residence time of the water in the system; chlorine : 0.01 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, chloramine : 0.3 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), the rates of DOC elimination averaged 13 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> and 0.42 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>, respectively in the chlorinated and chloraminated distribution systems. This decrease in DOC concentrations was related to the increase in bacterial density.

### Relationships between cell density, oxidant and organic matter

Linear relationships between the concentration of residual oxidant (chlorine or monochloramine) and the cell density in the water phase or in the biofilm show that :

- whichever oxidant was used, the pipe loop sections without residual disinfectants were characterized by about 5 x 10<sup>6</sup> attached cells per cm<sup>2</sup> (4 to 10% were able to grow on agar medium in 15 days at 20-22 °C) and by 4 x 10<sup>6</sup> planktonic cells per ml (1 % CFU ml<sup>-1</sup>);
- consistently, in the sections of the system with a residual disinfectant, the bacteria (CFU and epifluorescence counting) in the water phase were more sensitive to the residual disinfectant (chlorine or monochloramine) than the bacteria attached to the pipe walls (biofilm).

However, there was a difference in effectiveness between the two disinfectants; chlorine was more efficient in controlling planktonic bacteria and biofilm bacteria than was monochloramine.

For example, to achieve complete inactivation of the planktonic bacteria (CFU ml<sup>-1</sup>) a constant chlorine residual of 0.5 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> was required throughout the whole distribution system, compared to 2.5 times more chloramine to achieve the same efficiency.

Finally, with equivalent concentrations of residual disinfectant, the microbiological quality of the chlorinated distribution waters was better than that of the chloraminated distribution waters.

From loop to loop, linear relationships between ΔDOC and cell density pointed out that the presence of biodegradable organic matter can explain the bacterial proliferation in the distribution system. For example, a concentration of BDOC as low as 0.1 mg Cl<sup>-1</sup> resulted in an increase in the cell density : an additional accumulation of 7.5 x 10<sup>7</sup> attached cells cm<sup>-2</sup> and 4 x 10<sup>6</sup> planktonic cells ml<sup>-1</sup> was observed in the experimental distribution system at quasi steady-state.

Consequently, the control of the biodegradable organic carbon remains one of the prime objectives in order to achieve biologically stable distribution waters.

# Paramètres gouvernant la prolifération bactérienne dans les réseaux de distribution

## Parameters governing bacterial growth in water distribution systems

L. MATHIEU<sup>1</sup>, J.L. PAQUIN<sup>1</sup>, J.C. BLOCK<sup>5\*\*</sup>, G. RANDON<sup>2</sup>, J. MAILLARD<sup>3</sup>, D. REASONER<sup>4</sup>

Reçu le 12 novembre 1991, accepté pour publication le 7 juillet 1992\*.

### SUMMARY

This study was carried out in order to evaluate the variations in the physico-chemical characteristics of the water in an experimental distribution system.

The primary objectives of the study were :

- to compare the disinfectant efficiency of chlorine and monochloramine
- to establish quantitative correlations among bacterial density, concentration of residual disinfectant, and concentration of biodegradable organic matter.

The finished waters were obtained from a water treatment pilot plant characterized by : prechlorination (average treatment rate :  $1.4 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$  and residual after sand filtration :  $0.08 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$ ), coagulation-flocculation-sedimentation ( $\text{FeCl}_3$  treatment rate : 30 to 60  $\text{mg l}^{-1}$  adjusted to the raw water turbidity below 0.3 NTU), sand filtration (filtration rate :  $6 \text{ m h}^{-1}$ ) and post-disinfection with chloramine (average treatment rate :  $1.8 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$ ) or chloramine (average treatment rate :  $1.66 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$ ). The concentrations of post-disinfectant used were chosen in order to maintain chlorine at 0.2 to 0.5  $\text{mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$  and monochloramine at 1  $\text{mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$  after the first 24 hours residence time in the experimental distribution system.

The experimental distribution system is composed of three parallel loops connected in series (31 m length, 100 mm diameter, cement lined cast iron, water velocity :  $1 \text{ m s}^{-1}$ ). The configuration and operation of the system permitted a residence time of 24 hours in each loop (that is 72 hours for the whole system). Appropriate sample tap locations facilitated removal of bulk water samples. Special sampling parts also permitted sampling of cement coupons for determination of attached biofilm.

1. G.I.P. Stelor : 11 bis, rue G. Péri, 54500 Vandœuvre, France.
2. Compagnie Générale des Eaux : 52 rue d'Anjou, 75008 Paris, France.
3. Pont-à-Mousson : 91 Av. de la Libération, 54000 Nancy, France.
4. U.S. Environmental Protection Agency : 26W Martin Luther King Drive, Cincinnati, OH 45268, USA.
5. Faculté de Pharmacie, 5 rue A. Lebrun 54000 Nancy, France.

\* Les commentaires seront reçus jusqu'au 30 juin 1993.

\*\* Correspondance

The measured parameters were : residual oxidant (DPD method), DOC, BDOC (28 days of incubation at 28 °C with a bacterial inoculum), cell density in the bulk water phase (CFU ml<sup>-1</sup>) and in the biofilm (CFU cm<sup>-2</sup>) after 15 days of incubation at 20-22 °C. Total cells were enumerated using the epifluorescence direct count technique.

For each experiment, all the sampling sequences were carried out on each of three days, after quasi steady-state was achieved in the system (4 to 6 weeks after starting each experiment). The data were analysed in order to characterize the treated and distributed waters ; the results discussed here are based on the averages of the measured parameters from the water samples and biofilm samples taken after the system achieved quasi steady-state.

#### *Characteristics of the treated waters*

The treated waters were characterized by important variations of the DOC, BDOC and cell density. For example, the concentrations of DOC showed a seasonal variation ranging from 0.8 to 1.3 mg Cl<sup>-1</sup> in winter to 1.6 to 2.6 mg Cl<sup>-1</sup> in summer.

The treated waters contained approximately the same concentrations of residual disinfectant, averaging 1.6 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> for chlorine and 1.5 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> for monochloramine.

However, a significant difference cell density was found between the two post-disinfectants. Cell densities by the epifluorescence direct count technic were 1.6 x 10<sup>3</sup> ml<sup>-1</sup> (0.3 % of CFU ml<sup>-1</sup>) with chlorine and 6.3 x 10<sup>4</sup> ml<sup>-1</sup> (0.03 % of CFU ml<sup>-1</sup>) with monochloramine. The difference on cell density between the post-chlorination and the post-chloramination treatments has been observed systematically, and may be explained either as cellular lysis with chlorine or an interference when using epifluorescence counting for chlorinated waters.

#### *Characteristics of the distributed waters*

Whatever the season, depletion of oxidant (chlorine or monochloramine), and elimination of dissolved organic matter (DOC, BDOC) occured during the first hours of circulation of water in the distribution system. The net result was an increase in bacterial cell density.

During the first hours of circulation of the waters in the distribution system, depletion of the disinfectant occured. Depletion was more rapid for chlorine (- 0.05 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) than for monochloramine (- 0.02 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>), which is considered more stable than chlorine.

Even in the presence of a residual disinfectant in the distribution system, microorganisms are present in the water phase (10<sup>4</sup> to 10<sup>6</sup> cells ml<sup>-1</sup> by epifluorescence direct count ; 1 % CFU ml<sup>-1</sup> after 15 days of incubation at 20-22 °C) and in the biofilm (10<sup>5</sup> to 10<sup>6</sup> cells cm<sup>-2</sup> by epifluorescence direct count ; 1 % CFU ml<sup>-1</sup> after 15 days of incubation at 20-22 °C). The bacterial density increased while the disinfectant residual decreased. The apparent growth rate of the attached biomass ( $\mu_{fix}$ ) in loop 2 of the chlorinated distribution system (equivalent to 48 hours detention), was close to the  $\mu_{fix}$  calculated for loop 2 of the chloraminated distribution system : the values were 0.0043 h<sup>-1</sup> and 0.005 h<sup>-1</sup> respectively.

In addition, the change in the organic matter (expressed as DOC) occured in two steps :

- a slight increase in DOC during the 24 first hours of residence time (loop 1), when increased residual disinfectant were present.
- a bacterial consumption of DOC after 24 hours of residence time (loops 2 and 3), even in the presence of small concentrations of disinfectants.

In loop 2 (48 hours residence time of the water in the system ; chlorine : 0.01 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>, chloramine : 0.3 mgCl<sub>2</sub> l<sup>-1</sup>h<sup>-1</sup>), the rates of DOC elimination

averaged  $13 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$  and  $0.42 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$ , respectively in the chlorinated and chloraminated distribution systems. This decrease in DOC concentrations was related to the increase in bacterial density.

#### *Relationships between cell density, oxidant and organic matter*

Linear relationships between the concentration of residual oxidant (chlorine or monochloramine) and the cell density in the water phase or in the biofilm show that :

- whichever oxidant was used, the pipe loop sections without residual disinfectants were characterized by about  $5 \times 10^6$  attached cells per  $\text{cm}^2$  (4 to 10 % were able to grow on agar medium in 15 days at 20-22 °C) and by  $4 \times 10^5$  planktonic cells per ml ( $1 \% \text{ CFU ml}^{-1}$ ) ;
- consistently, in the sections of the system with a residual disinfectant, the bacteria (CFU and epifluorescence counting) in the water phase were more sensitive to the residual disinfectant (chlorine or monochloramine) than the bacteria attached to the pipe walls (biofilm).

However, there was a difference in effectiveness between the two disinfectants ; chlorine was more efficient in controlling planktonic bacteria and biofilm bacteria than was monochloramine.

For example, to achieve complete inactivation of the planktonic bacteria ( $\text{CFU ml}^{-1}$ ) a constant chlorine residual of  $0.5 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$  was required throughout the whole distribution system, compared to 2.5 times more chloramine to achieve the same efficiency.

Finally, with equivalent concentrations of residual disinfectant, the microbiological quality of the chlorinated distribution waters was better than that of the chloraminated distribution waters.

From loop to loop, linear relationships between  $\Delta \text{DOC}$  and cell density pointed out that the presence of biodegradable organic matter can explain the bacterial proliferation in the distribution system. For example, a concentration of BDOC as low as  $0.1 \text{ mgC l}^{-1}$  resulted in an increase in the cell density : an additional accumulation of  $7.5 \times 10^5$  attached cells  $\text{cm}^{-2}$  and  $4 \times 10^4$  planktonic cells  $\text{ml}^{-1}$  was observed in the experimental distribution system at quasi steady-state.

Consequently, the control of the biodegradable organic carbon remains one of the prime objectives in order to achieve biologically stable distribution waters.

**Key-words :** *biodegradable organic matter, DOC, BDOC, bacterial proliferation, distribution systems, biofilm, disinfectant efficiency, chlorine, chloramine.*

## RÉSUMÉ

L'étude a permis de suivre l'évolution des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des eaux dans un réseau de distribution expérimental de taille industrielle, afin de comparer d'une part l'effet du chlore et de la monochloramine sur la biomasse présente dans le système à l'équilibre et d'autre part d'établir des relations quantitatives entre prolifération bactérienne, oxydant et matière organique biodégradable.

Dès les premières heures de transit dans le réseau, une consommation des oxydants est constatée, avec toutefois une plus grande stabilité de la monochloramine (vitesse de consommation de  $0,05 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$  et  $0,02 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}\text{h}^{-1}$  respectivement pour le chlore et la monochloramine).

Même en présence d'un désinfectant résiduel, il est possible de noter une accumulation de bactéries à la surface des tuyaux de distribution ( $10^5$  à  $10^6$  cellules.  $\text{cm}^{-2}$ , dont environ 1 % est cultivable sur gélose) qui augmente avec la diminution de concentration du désinfectant résiduel. Les relations

logarithmiques entre densité cellulaire (phase eau ou biofilm) et oxydant résiduel montrent d'une part que pour inactiver totalement les bactéries en suspension dans l'eau il convient de maintenir une chloration en continu avec un résiduel constant supérieur ou égal à  $0,5 \text{ mgCl}_2 \text{ l}^{-1}$  et, d'autre part que les chloramines sont au moins 2,5 fois moins efficaces que le chlore, même vis-à-vis des bactéries fixées.

La présence de matière organique biodégradable dans les eaux explique la prolifération des bactéries dans le système de distribution. Ainsi une concentration additionnelle de  $100 \mu\text{g.l}^{-1}$  de carbone organique dissous biodégradable (CODB) dans l'eau entrant dans le réseau de distribution occasionne en 24 heures et à  $20^\circ\text{C}$  une augmentation du nombre de bactéries fixées ( $+ 7,5 \cdot 10^5 \text{ cellules.cm}^{-2}$ ) ou en suspension ( $+ 4 \cdot 10^4 \text{ cellules.ml}^{-1}$ ) dans le réseau de distribution, à l'équilibre, déjà largement colonisé par des micro-organismes.

Ainsi le contrôle de la fraction biodégradable de la matière organique apparaît toujours comme un objectif primordial.

**Mots clés :** matière organique biodégradable, COD, CODB, prolifération bactérienne, réseau de distribution, biofilm, désinfection, chlore, chloramine.

## 1 - INTRODUCTION

L'accumulation bactérienne dans les réseaux de distribution d'eau potable est la résultante de l'effet conjoint d'au moins trois paramètres : la concentration en oxydant résiduel, le flux en molécules organiques biodégradables et le flux de cellules bactériennes.

Il est aujourd'hui largement reconnu que cette prolifération s'opère préférentiellement sur les parois des canalisations et que la contamination bactérienne de l'eau résulte alors d'une multiplication des bactéries fixées suivie de leur arrachage (HAUDIDIER *et al.*, 1988 ; VAN DER WENDE *et al.*, 1989 ; BLOCK *et al.*, 1992a).

L'accumulation bactérienne observée dans les réseaux de distribution s'effectue au détriment de la fraction biodégradable de la matière organique dissoute dont l'importance a été mise en évidence par plusieurs études récentes (KAPLAN et BOTT, 1990 ; VAN DER KOOIJ, 1990 ; CAPELLIER *et al.*, 1991 ; LECHEVALLIER *et al.*, 1991 ; MATHIEU *et al.*, 1991).

Limiter l'accumulation bactérienne nécessite alors :

– d'une part l'application et le maintien de désinfectants qu'il faut choisir les plus efficaces possibles. A ce titre, certains travaux récents de LECHEVALLIER *et al.*, (1990) mettent en évidence une meilleure efficacité désinfectante de la monochloramine au niveau du biofilm, comparativement au chlore. Toutefois, il est largement démontré que leur efficacité est limitée dans le temps puisque le biofilm se présente comme un microcosme protecteur vis-à-vis de toxiques (EXNER *et al.*, 1987 ; HERSON *et al.*, 1987 ; LECHEVALLIER *et al.*, 1988 ; MATHIEU *et al.*, 1990 ; PAQUIN *et al.*, 1992) ;

– d'autre part de diminuer les concentrations en matière organique biodégradable dans les eaux en entrée de réseau, en dessous d'une valeur seuil pour laquelle aucune prolifération bactérienne ne serait observée (LEVI, 1990 ; SERVAIS *et al.*, 1991).

Si le rôle de ces deux variables est clairement identifié, par contre la définition de leurs concentrations respectives, efficaces ou acceptables, reste imparfaite.

Aussi l'objet de cette étude réalisée à l'aide d'un réseau de distribution expérimental est de (i) mesurer l'évolution des eaux au cours de leur distribution en termes d'oxydant, de matière organique et de densité bactérienne, (ii) comparer l'efficacité désinfectante du chlore et de la monochloramine dans les eaux distribuées et (iii) établir des relations quantitatives explicatives de la densité bactérienne dans le réseau de distribution, en la reliant soit à l'oxydant résiduel, soit à la matière organique biodégradable.

## 2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée sur un système pilote de taille industrielle, composé d'une chaîne de traitement couplée à un réseau de distribution expérimental.

### 2.1 La chaîne de traitement

L'alimentation de la chaîne de traitement ( $150 \text{ l.h}^{-1}$ ) a été réalisée à partir d'eau superficielle. La filière de traitement est caractérisée par une succession d'étapes : préchloration (taux de traitement moyen avec de l'eau de javel de  $1,4 \text{ mg Cl}_2.\text{l}^{-1}$  et résiduel en sortie de filtre à sable de  $0,08 \text{ mgCl}_2.\text{l}^{-1}$  en moyenne) – coagulation, floculation avec du chlorure ferrique (taux de traitement moyen ajusté entre 30 et  $60 \text{ mg.l}^{-1}$  afin d'obtenir une turbidité de l'eau  $< 0,3 \text{ NTU}$ ) suivi d'une sédimentation – filtration sur sable (vitesse de filtration de  $6 \text{ m.h}^{-1}$ ) post-désinfection.

La post-désinfection a été conduite de manière à obtenir dans le réseau de distribution des résiduels en chlore de  $0,2$  à  $0,5 \text{ mgCl}_2.\text{l}^{-1}$  et en chloramine de  $1 \text{ mg Cl}_2.\text{l}^{-1}$  après 24 heures de temps de séjour.

La post-désinfection s'effectuait en alternance avec du chlore sous forme d'eau de javel (taux de traitement moyen de  $1,8 \text{ mg Cl}_2.\text{l}^{-1}$ ) ou avec de la monochloramine (taux de traitement moyen de  $1,66 \text{ mg Cl}_2.\text{l}^{-1}$ ). La solution de monochloramine était préparée en continu sur le site à partir d'un mélange volume à volume d'eau de javel ( $3 \text{ g Cl}_2.\text{l}^{-1}$ ) tamponnée à pH 10 avec un tampon carbonate et de chlorure d'ammonium ( $2,25 \text{ g.l}^{-1}$ ).

Cette étape de désinfection finale était réalisée dans des bacs tampons où le temps de séjour des eaux chlorées ou chloraminées avant leur injection dans le réseau atteint 2 heures 30 mn.

## 2.2 Le réseau de distribution expérimental

Le réseau de distribution expérimental était constitué de trois boucles (fig. 1), disposées en série (canalisations de 100 mm de diamètre en fonte revêtue intérieurement d'un mortier de ciment) (COLIN *et al.*, 1987). Le débit traversier alimentant les boucles, fixé à  $10 \text{ l.h}^{-1}$ , conduisait à un temps de séjour moyen des eaux dans chaque boucle égal à 24 heures, soit 72 heures pour le réseau. La pression interne était réglée entre 1 et 1,3 bars, la vitesse de circulation de l'eau à l'intérieur de chaque boucle à  $1 \text{ m.s}^{-1}$  ( $\pm 5\%$ ) et la température moyenne variait de 19 à 23 °C.

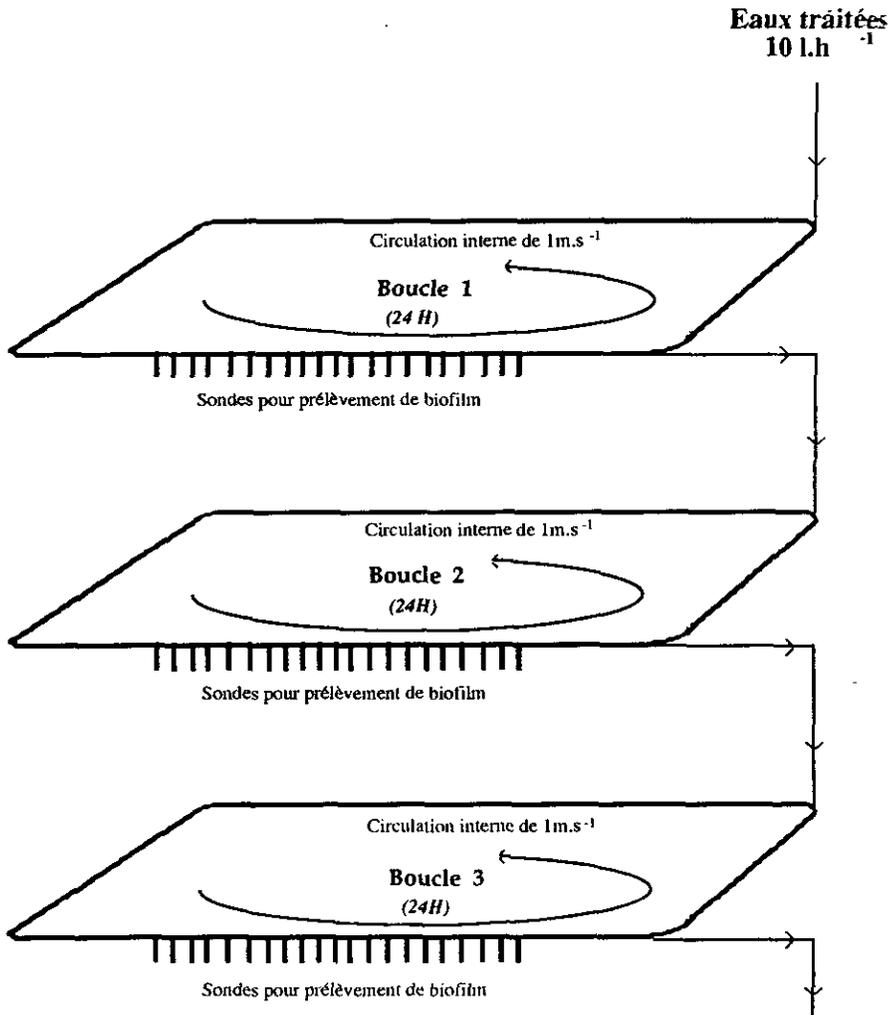


Figure 1 Représentation schématique du réseau de distribution expérimental.  
Schematic representation of the experimental distribution system.

Sur chacune des boucles, 21 éprouvettes ont permis d'introduire dans le système des pastilles de mortier de ciment de façon à ce que ce matériau affleure à la surface interne des canalisations. Ces pastilles de  $2 \text{ cm}^2$  de surface apparente, montées sur des sondes extractibles, étaient ainsi exposées à l'eau circulante et pouvaient être retirées, sans arrêter le système, pour permettre l'analyse du biofilm fixé à leur surface.

## 2.3 Description de l'étude

Cette étude s'est déroulée sur deux années consécutives (de décembre 1989 à juillet 1991). Durant toute cette période, l'ensemble du pilote a fonctionné en continu. Le traitement et la distribution ont été conduits selon les modalités décrites aux paragraphes 2.1 et 2.2. Seules les conditions de post-désinfection variaient, en alternant systématiquement périodes de post-chloration (en moyenne 5 semaines chacune) et périodes de post-chloramination (en moyenne 4 semaines chacune).

Au total sur les deux années consécutives, 6 périodes de post-chloration et 6 périodes de post-chloramination ont été étudiées alternativement.

Les analyses rapportées ici concernent des séquences de prélèvement qui ont été systématiquement effectuées sur 3 jours consécutifs à la fin de chaque période de post-désinfection (i.e. à l'état quasi stationnaire). Les prélèvements d'eau étaient réalisés à la fois sur les eaux d'entrée du réseau de distribution (eaux traitées) et à la sortie de chacune des boucles (boucles 1, 2 et 3). De plus, des prélèvements de biofilm étaient effectués sur chaque boucle (3 pastilles retirées/jour de prélèvement).

Pour chaque paramètre mesuré au terme de chaque période de post-désinfection, les résultats sont exprimés :

- pour les prélèvements d'eau, comme la moyenne de trois valeurs obtenues sur les trois jours de prélèvement,
- pour le biofilm, comme la moyenne de  $3 \times 3$  valeurs obtenues sur les trois jours de prélèvement.

## 2.4 Paramètres mesurés

Trois groupes de paramètres ont été étudiés : la concentration en oxydant résiduel, la concentration en matière organique et la densité bactérienne.

### 2.4.1 L'oxydant résiduel

Les oxydants résiduels ont été dosés dans les eaux traitées et distribuées par la méthode colorimétrique à la diéthyl-para-phénylène diamine (DPD), en utilisant des réactifs sous forme de pastilles à dissolution rapide, commercialisées par la société Cifec.

Les résultats sont exprimés en  $\text{mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  par lecture de la réaction colorée obtenue par action de l'oxydant sur la DPD à l'aide d'un comparateur à lecture visuelle équipé d'une échelle d'étalons colorés permanents (Lovibon 2000 avec cuves de 13,5 et 40 mm de profondeur). En période de post-chloration

comme en période de post-chloramination, le chlore libre et le chlore total sont mesurés respectivement à l'aide des pastilles de DPD n°1N et DPD n°4N (Cifec).

Dans la mesure où l'eau est très peu chargée en  $\text{NH}_4^+$ , nous avons vérifié que dans le cas de la post-chloration, le chlore total est constitué à 97 % de chlore libre et en post-chloramination, la monochloramine représente plus de 90 % du chlore total. Dans ces conditions, nous avons exprimé l'ensemble des résultats en terme de chlore total ( $\text{mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ ).

#### 2.4.2 La matière organique

La matière organique a été caractérisée par le dosage du carbone organique dissous (COD) et la détermination du carbone organique dissous biodégradable (CODB). Les prélèvements destinés aux mesures de matière organique étaient effectués dans des flacons bruns à bouchons émeris, traités par chauffage à 550 °C pendant 3 heures.

a) Le dosage du COD utilise une oxydation UV-persulfate de potassium et a été réalisé avec un analyseur de carbone Dohmann DC80, étalonné à l'aide d'une solution de phtalate de potassium de 10  $\text{mg C} \cdot \text{l}^{-1}$ .

Pour chacun des échantillons ramené au laboratoire, un prélèvement aliquote de 10 ml était prélevé à l'aide d'une seringue en verre, préalablement traitée à l'acide nitrique, puis filtré sur membrane Durapore de 0,2  $\mu\text{m}$  de porosité (Millipore, GVWP 02500) préalablement rincée 10 fois avec 10 ml d'eau Milli Q. Le filtrat était récupéré dans des tubes de verre (traités à 550 °C pendant 3 heures) auxquels 30 ml d'acide nitrique étaient ajoutés. Ces tubes hermétiquement fermés étaient ensuite stockés à +4/+6 °C jusqu'au moment du dosage.

Les échantillons étant débarrassés de leur carbone inorganique par acidification à pH 2 et bullage de l'échantillon à l'oxygène ultra pur, la mesure du carbone organique dissous consistait en une oxydation de la matrice organique en  $\text{CO}_2$  par action de persulfate de potassium associé aux UV. Le  $\text{CO}_2$  produit était entraîné par un gaz vecteur (oxygène ultra pur) jusqu'au détecteur infrarouge pré-réglé à la longueur d'onde d'absorption du  $\text{CO}_2$ . L'aire du pic obtenu était intégrée, permettant une expression directe en milligrammes de carbone par litre.

b) La détermination de la fraction biodégradable de la matrice organique nécessite l'utilisation d'un inoculum constitué d'une population bactérienne mixte, soit en suspension, soit fixée à un support.

Dans un premier temps, l'inoculum "bactéries fixées" a été utilisé puis, pour des raisons pratiques, nous avons opté pour l'inoculum constitué de bactéries en suspension, nécessitant un temps d'incubation des flacons plus long mais moins de prélèvements de COD comparativement à l'utilisation des bactéries fixées.

A 300 ml d'échantillon prélevés dans des flacons bruns ont été ajoutés soit 100 grammes de sable naturellement colonisé par une biomasse, provenant de filtre de station de traitement d'eau (JORET *et al.*, 1989), soit 3 ml d'une eau de rivière (SERVAIS *et al.*, 1989).

Les inocula étaient préalablement traités :

- 1) le sable était rincé grossièrement avec l'eau du robinet, puis 10 fois avec une eau Milli Q afin de minimiser les contaminations lors de l'inoculation,
- 2) l'eau de rivière était préfiltrée sur filtre en fibre de verre de  $1,7 \mu\text{m}$  de porosité afin d'éliminer la majeure partie des grosses particules.

Après inoculation, quel que soit l'inoculum testé, les flacons étaient mis à incuber au maximum 28 jours à  $28^\circ\text{C}$  ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) et, périodiquement, un prélèvement aliquote de 10 ml était effectué afin de doser le COD résiduel de l'échantillon.

Les courbes cinétiques traduisant la diminution du carbone organique dissous en fonction du temps passent généralement par un minimum et le CODB était évalué par la différence entre le COD initial, mesuré avant inoculation et le COD minimal obtenu durant la période d'incubation.

### 2.4.3 La densité bactérienne

La numération des bactéries a été conduite soit sur les biofilms fixés sur les pastilles de ciment, soit sur les bactéries en suspension (planctoniques) dans l'eau.

#### a) Analyse du biofilm

Les pastilles de ciment retirées aseptiquement du réseau expérimental étaient placées dans 25 ml d'eau distillée stérile préfiltrée sur membrane de  $0,22 \mu\text{m}$  de porosité. Les bactéries fixées étaient récupérées après 2 minutes de traitement par les ultrasons (sonicateur Vibra-cell équipé d'une microsonde conique - 10 W - 20 Khz). Des essais préliminaires ont montré que de telles conditions opératoires garantissaient la viabilité des bactéries et permettaient de décrocher plus de 80 % des cellules fixées.

Deux types de populations bactériennes ont été dénombrés :

- les cellules bactériennes (nombre total de bactéries mortes et vivantes) dénombrées par comptage au microscope ( $\times 1000$  - lumière bleue - épifluorescence Olympus) après coloration par une solution d'acridine orange (0,01 % en concentration finale, pendant 30 mn) et filtration sur membrane noire en polycarbonate (Nuclepore) de porosité  $0,2 \mu\text{m}$
- les bactéries cultivables ou Unités Formant Colonies (U.F.C.) dénombrées après ensemencement par incorporation d'un millilitre d'eau dans une gélose nutritive (AFNOR NF T90-402) et incubation 3 ou 15 jours à  $20-22^\circ\text{C}$ .

Les résultats sont exprimés selon la méthode utilisée en cellules fixées,  $\text{cm}^{-2}$  ou en UFC fixées,  $\text{cm}^{-2}$ .

#### b) Analyse de l'eau

L'eau est prélevée dans des flacons stériles, préalablement rincés avec de l'eau apyrogène, renfermant du thiosulfate de sodium à raison de  $17,5 \text{ mg l}^{-1}$  en concentration finale.

Les densités en cellules bactériennes et bactéries cultivables ont été déterminées dans l'eau alimentant le réseau et dans chaque boucle sur des échantillons prélevés aseptiquement. Les mêmes méthodes que celles précédemment décrites pour les biofilms ont été utilisées.

Les résultats sont exprimés selon la méthode utilisée en cellules planctoniques.  $\text{ml}^{-1}$  ou en UFC planctoniques.  $\text{ml}^{-1}$ .

### 3 - RÉSULTATS

Trois groupes de paramètres ont été suivis au cours des 24 mois de l'expérimentation sur le réseau de distribution pilote : oxydant résiduel (chlore ou chloramine exprimés en mg de chlore total résiduel. $\text{l}^{-1}$ ), matière organique (mesure du carbone organique dissous COD en mg C. $\text{l}^{-1}$ ) et densité bactérienne (cellules totales par ml et par  $\text{cm}^2$  ; bactéries viables par ml et par  $\text{cm}^2$ ).

L'analyse de ces résultats a permis de caractériser les eaux en fin de traitement, mais également au cours de leur vieillissement dans le système de distribution selon le type d'oxydant utilisé pour la post-désinfection.

D'autre part, des relations quantitatives entre ces 3 paramètres ont été établies afin de cerner le(s) paramètre(s) gouvernant l'accumulation bactérienne dans le réseau de distribution chloré ou chloraminé.

#### 3.1 Caractéristiques des eaux traitées

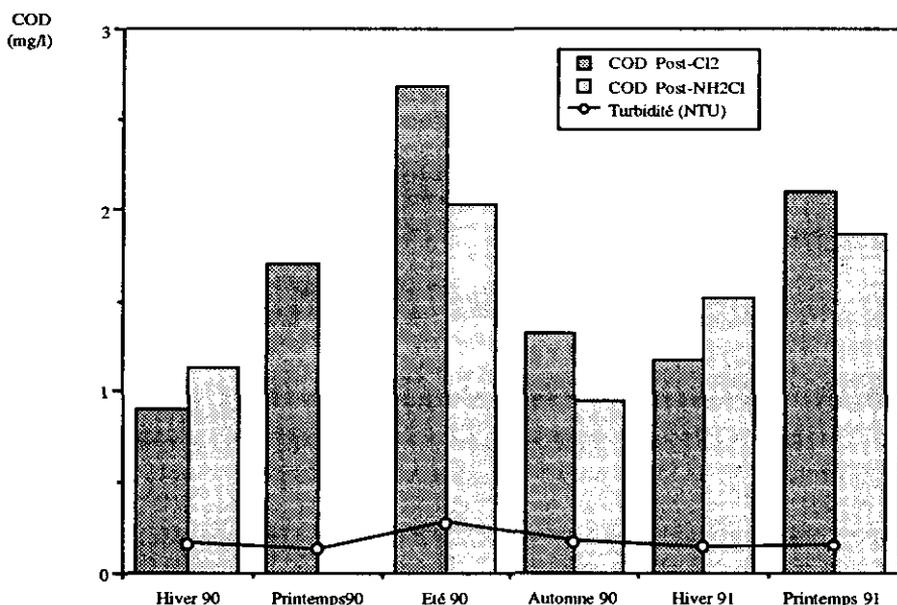
Au cours des deux années d'études, les eaux traitées issues de la chaîne de traitement (*tableau 1*) ont été caractérisées par de faibles variations de certains groupes de paramètres tels que la concentration en chlore résiduel et la turbidité, dans la mesure où le traitement est ajusté pour les maintenir à un niveau relativement constant. Par contre, la chaîne de traitement corrige mal les fluctuations de la concentration en matière organique et en cellules bactériennes de l'eau brute, conduisant *de facto* à une importante variabilité de ces paramètres dans les eaux traitées. Ainsi, le COD présente une variation saisonnière (*fig. 2*), les concentrations observées en été augmentant d'un facteur 2 à 2,5 par rapport aux concentrations mesurées en période froide.

Toutefois, afin de simplifier la présentation des résultats, des moyennes ont été effectuées sur l'ensemble des six campagnes de post-chloration et/ou de post-chloramination. Ainsi, en moyenne, les eaux traitées sont caractérisées par une concentration de COD de 1,65 mgC. $\text{l}^{-1}$  en post-chloration et de 1,5 mgC. $\text{l}^{-1}$  en post-chloramination dont respectivement 27 et 19 % sont biodégradables (*tableau 1*). L'oxydant résiduel est, quant à lui, présent à une concentration de 1,6 mg $\text{Cl}_2$ . $\text{l}^{-1}$  en chlore et de 1,5 mg $\text{Cl}_2$ . $\text{l}^{-1}$  en monochloramine. Par contre, une différence entre les deux traitements de post-désinfection s'observe au niveau de la densité bactérienne. Aussi, le nombre de cellules totales, numérées par épifluorescence, est de 1,6  $10^3$ .  $\text{ml}^{-1}$  toutes périodes de post-chloration confondues contre 6,3  $10^4$ .  $\text{ml}^{-1}$  toutes périodes de post-chloramination confondues, dont respectivement 0,3 % et 0,03 % se développent sur gélose après 15 jours d'incubation à 22 °C.

**Tableau 1** Caractéristiques moyennes des eaux traitées post-chlorées ou post-chloraminées utilisées au cours de ces essais ; (-) = écart-type.

**Table 1** Characteristics of the treated waters after a post-disinfection with chlorine or chloramine used in this experiments ; (-) = standard deviation.

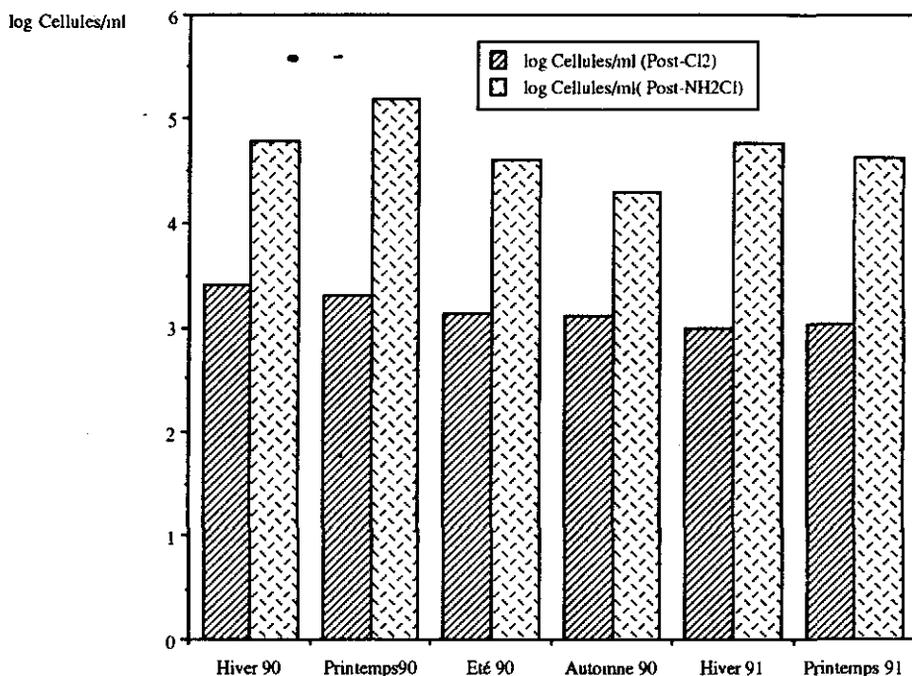
	Post-chloration n = 6	Post-chloramination n = 6
COD (mgC.l <sup>-1</sup> )	1,65 (0,65)	1,5 (0,47)
CODB (mgC.l <sup>-1</sup> )	0,48 (0,45)	0,2 (0,11)
Cellules planctoniques (cellules.ml <sup>-1</sup> )	1,6 10 <sup>3</sup> (0,62 10 <sup>3</sup> )	6,3 10 <sup>4</sup> (4,8 10 <sup>4</sup> )
Bactéries planctoniques (UFC - 3 jours.ml <sup>-1</sup> )	0,17 (0,41)	1,3 (2)
Bactéries planctoniques (UFC - 15 jours.ml <sup>-1</sup> )	5 (4,2)	18 (13)
Chlore total résiduel (mgCl <sub>2</sub> .l <sup>-1</sup> )	1,6 (0,2)	1,51 (0,18)
Turbidité (NTU)	0,2 (0,1)	0,14 (0,02)



**Figure 2** Variations saisonnières du COD et de la turbidité dans les eaux traitées post-désinfectées.

*Seasonal variations of the DOC and the turbidity in treated waters.*

La différence de densité bactérienne moyenne entre les traitements de post-chloration et de post-chloramination a été, de fait, observée systématiquement pour toutes les campagnes de prélèvement (fig. 3). Elle traduit soit un phénomène de lyse cellulaire en présence d'eau de javel (concentration moyenne  $1,6 \text{ mg.l}^{-1}$  ; temps de contact 2h30 ; température  $20 \text{ }^\circ\text{C}$ ), soit une interférence au niveau du comptage microscopique en épifluorescence des cellules ayant subi une chloration.



**Figure 3** Variations saisonnières du nombre total de cellules (épifluorescence) exprimé en log, en fonction des deux oxydants utilisés en post-désinfection.

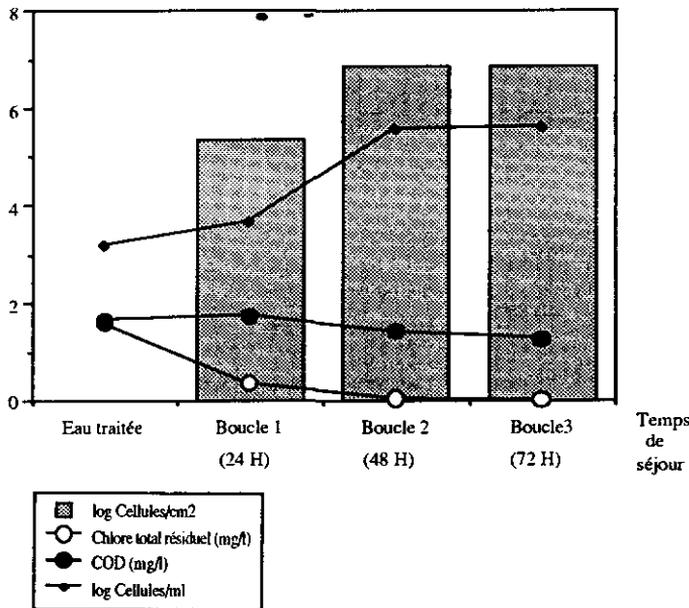
*Seasonal variations of the cell density (epifluorescence) expressed in log as a function of the oxidant used in post-disinfection.*

### 3.2 Vieillessement des eaux au cours de la distribution

La circulation des eaux dans un réseau conduit à des variations significatives de tous les paramètres : consommation de l'oxydant résiduel et de la matrice organique qui occasionnent *de facto* une prolifération bactérienne dans le réseau de distribution expérimental composé de trois boucles en série correspondant à trois temps de résidence hydraulique différents (24, 48 et 72 heures).

Dans la mesure où dans le réseau de distribution expérimental le comportement des variables : désinfectant, matière organique et densité bactérienne présentent les mêmes tendances, les résultats suivant décrivent les évolutions moyennes de ces paramètres, toutes saisons confondues.

Les figures 4 et 5 présentent les profils évolutifs des oxydants résiduels, des concentrations en COD et des densités bactériennes, respectivement pour un réseau alimenté avec une eau post-chlorée ou une eau post-chloraminée. Une différence dans la disparition de l'oxydant est visible en fonction du type de désinfectant utilisé. Ainsi, dans la première boucle (correspondant à un temps de séjour de l'eau de 24 heures), la vitesse de consommation moyenne des chloramines est de  $-0,02 \text{ mgCl}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  contre  $-0,05 \text{ mgCl}_2 \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  pour le chlore.

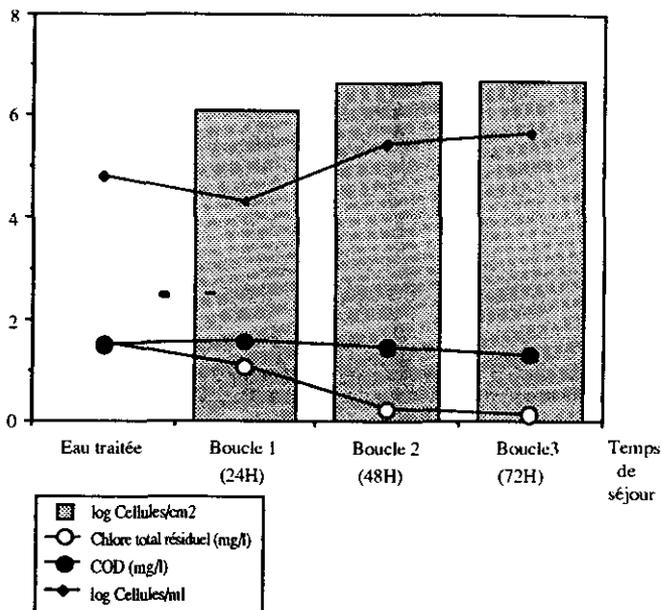


**Figure 4** Variations moyennes des concentrations en chlore total résiduel, en COD, et du nombre total de cellules (log) dans le système de distribution alimenté avec des eaux chlorées.

*Variations of the concentrations of residual total chlorine, DOC and cell density (log) in the chlorinated experimental distribution system.*

Cette meilleure stabilité des chloramines se traduit également par un résiduel en oxydant de  $0,1 \text{ mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  dans la boucle 3 (après 72 heures de temps de séjour) alors qu'il est quasi nul dès la boucle 2 lors des essais de post-désinfection avec le chlore.

En ce qui concerne l'évolution de la matière organique au cours de la distribution, une légère augmentation de carbone organique est constatée dans l'eau de la boucle 1 (temps de résidence hydraulique de 24 heures), avec une augmentation moyenne de la concentration en COD plus importante en période de post-chloration, comparativement à la post-chloramination. L'hypothèse, précédemment évoquée, d'une lyse cellulaire consécutive à la post-chloration et occasionnant des relargages de matériel bactérien dans le milieu, pourrait peut-être expliciter cette augmentation du COD.



**Figure 5** Variations moyennes des concentrations en chlore total résiduel, en COD et du nombre total de cellules (log) dans le système de distribution alimenté avec des eaux chloraminées.

*Variations of the concentrations of residual total chloramine, DOC and cell density (log) in the chloraminated experimental distribution system.*

Par contre, dès la boucle 2, une fraction du COD est consommé par les bactéries, même s'il reste du désinfectant (chlore :  $0,01 \text{ mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$  ou chloramines :  $0,3 \text{ mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ ), à une vitesse moyenne de  $13 \mu\text{gC} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  et de  $0,42 \mu\text{gC} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$  respectivement dans les réseaux chloré ou chloraminé. Cette diminution du COD est à relier à l'augmentation sensible des cellules bactériennes planctoniques et du biofilm entre les boucles 1 et 2.

Ainsi, la densité des cellules planctoniques augmente de  $1,7 \text{ log}$  et  $1,2 \text{ log}$  respectivement dans la boucle 2 des réseaux chloré et chloraminé. Il est de plus remarquable que lorsque la concentration en désinfectant est faible ou nulle (boucle 3), le nombre de cellules en suspension dans l'eau est identique quel que soit le désinfectant initial utilisé.

Même en présence de désinfectant résiduel à forte concentration, un biofilm bactérien est présent dans les boucles 1 (de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6$  cellules.  $\text{cm}^{-2}$  dont approximativement 1 % sont cultivables sur gélose en 15 jours d'incubation à  $20-22 \text{ }^\circ\text{C}$ ). De plus, dès que le résiduel de chlore diminue, la densité des cellules fixées augmente dans les boucles 2 de  $1,6 \text{ log}$  et  $0,5 \text{ log}$  respectivement dans les réseaux chloré ou chloraminé.

Les taux de croissance apparents de la biomasse fixée, calculés selon le formalisme défini par VAN DER WENDE *et al.* (1989), ne présentent pas dans les boucles 2 de différences notoires dans le réseau chloré ( $\mu_{\text{fix}} = 0,0043 \text{ h}^{-1}$ ) ou dans le réseau chloraminé ( $\mu_{\text{fix}} = 0,005 \text{ h}^{-1}$ ). En d'autres termes, le temps de

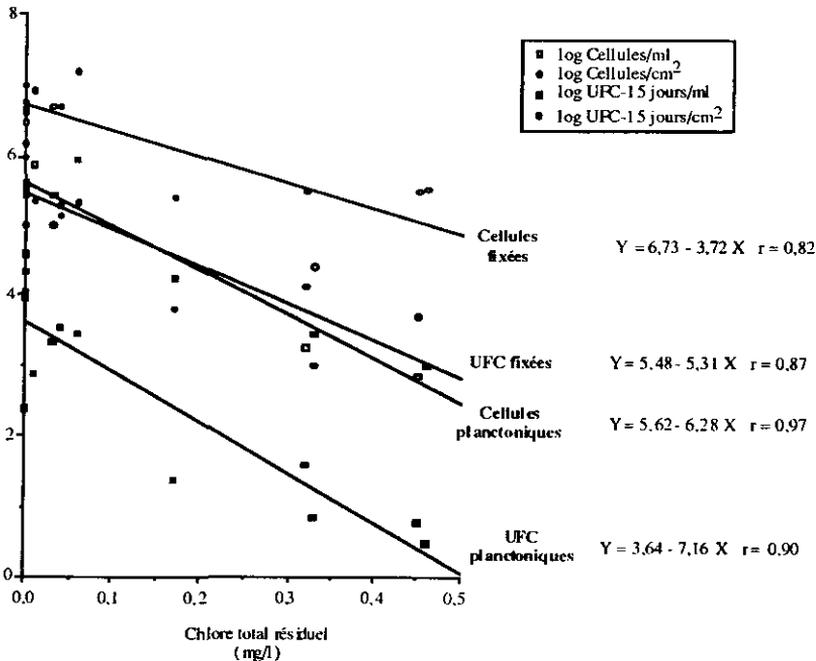
doublement apparent des cellules fixées est compris entre 6,7 jours et 5,8 jours. Au-delà de la boucle 2, le nombre de cellules fixées atteint dans les deux réseaux une valeur moyenne de  $3 \cdot 10^6$  cellules.  $\text{cm}^{-2}$ .

### 3.3 Relation densité bactérienne – oxydant résiduel dans le réseau de distribution

Des calculs non rapportés ici (régression linéaire) montrent que les densités de micro-organismes observées dans les réseaux de distribution, chloré ou chloraminé, ne sont pas proportionnelles à la quantité de désinfectant consommé au cours de la distribution. Par contre, la relation s'établit parfaitement entre le logarithme de la densité bactérienne (cellules totales et bactéries viables) et la concentration résiduelle du désinfectant dans chaque boucle du pilote.

Ainsi, comme le montre la figure 6, en présence de peu ou pas d'oxydant résiduel (généralement en boucle 3), le réseau alimenté avec une eau post-chlorée est caractérisé par :

- un biofilm de  $5,4 \cdot 10^6$  cellules.  $\text{cm}^{-2}$  dont  $3 \cdot 10^5$ .  $\text{cm}^{-2}$  sont cultivables sur gélose après 15 jours d'incubation à 20-22 °C,
- une eau contenant  $4,2 \cdot 10^5$  cellules planctoniques.  $\text{ml}^{-1}$  dont environ 1 % sont cultivables sur gélose après 15 jours d'incubation à 20-22 °C.



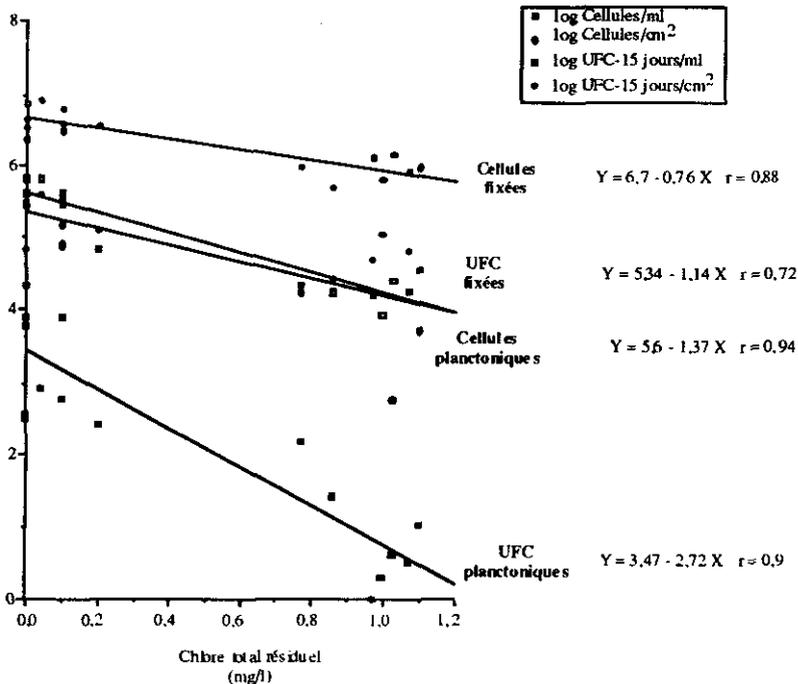
**Figure 6** Relations entre la densité bactérienne (cellules et UFC) et la concentration en chlore total résiduel ( $\text{mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ ) dans le système de distribution.

*Relationship between the cell density (total cell and CFU) expressed in log, and the concentrations of the residual chlorine ( $\text{mg Cl}_2 \cdot \text{l}^{-1}$ ) in the distribution system.*

En présence d'oxydant résiduel, ce sont les bactéries présentes dans la phase eau (cellules. ml<sup>-1</sup> et UFC.ml<sup>-1</sup>) qui sont le plus affectées par le chlore total résiduel, même si une diminution du nombre total de cellules et d'UFC fixées est également observée. Aussi, une concentration de 0,5 mgCl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> en chlore total résiduel, maintenue en continu, permet d'inhiber totalement les micro-organismes viables de la phase eau ; toutefois, dans ces conditions, les nombres de cellules planctoniques, de cellules fixées et d'UFC fixées sont encore de 3. 10<sup>2</sup>. ml<sup>-1</sup>, 10<sup>5</sup>. cm<sup>-2</sup> et de 6,7. 10<sup>2</sup>. cm<sup>-2</sup> respectivement.

Le même type de relation est établi dans le réseau de distribution alimenté par une eau post-chloraffiné (fig. 7). Ainsi, en l'absence de résiduel chloraminé, les concentrations bactériennes observées dans le réseau sont semblables à celles obtenues dans le réseau alimenté par une eau chlorée soit :

- 5.10<sup>6</sup> cellules fixées par cm<sup>2</sup>, environ 4 % se cultivant sur gélose en 15 jours à 20-22 °C,
- 4.10<sup>5</sup> cellules planctoniques par ml dont moins de 1 % acceptent de se développer sur gélose après 15 jours d'incubation.



**Figure 7** Relations entre la densité bactérienne (cellules et UFC) et la concentration en monochloramine résiduelle (mg Cl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>) dans le système de distribution.

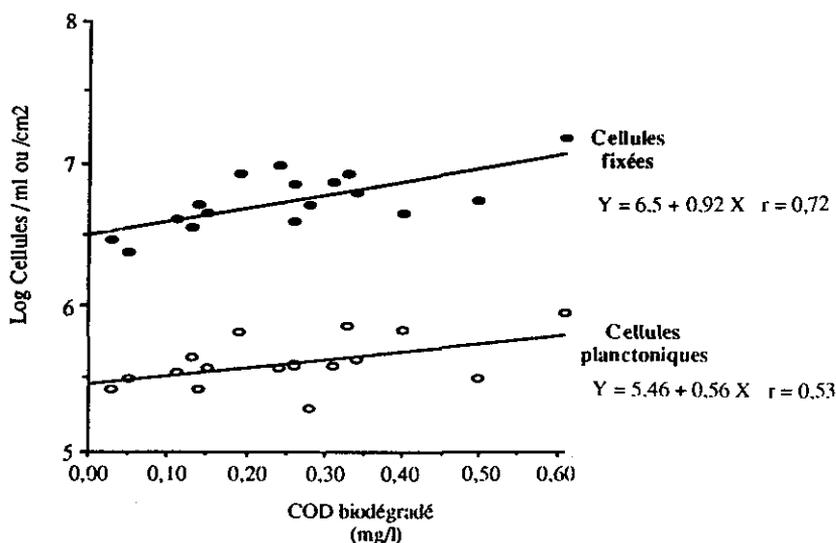
*Relationship between the cell density (total cell and CFU) expressed in log, and the concentrations of the residual chloramine (mg Cl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>) in the distribution system.*

Par contre, pour un résiduel de 0,5 mg Cl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> en monochloramine, la phase eau véhicule encore 1,3.10<sup>2</sup> UFC planctoniques.ml<sup>-1</sup> et 8,2.10<sup>4</sup> cellules planctoniques.ml<sup>-1</sup>. De plus 5,9.10<sup>4</sup> UFC fixées.cm<sup>-2</sup> et 2.10<sup>6</sup> cellules fixées.cm<sup>-2</sup> sont encore détectées sur les parois des canalisations du réseau chloraminé.

Il est clair que la qualité microbiologique des eaux chlorées distribuées est meilleure que celle des eaux chloraminées distribuées à concentration équivalente en oxydant résiduel. De même, vis-à-vis de la biomasse fixée, le chlore est cinq fois plus efficace que la monochloramine. A titre d'exemple, il faudrait maintenir un résiduel constant de 2,2 mgCl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> en monochloramine pour obtenir le même effet sur la biomasse fixée que 0,5 mgCl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> en chlore.

### 3.4 Relation densité bactérienne – matière organique biodégradable dans le réseau de distribution

La matière organique biodégradable est reconnue pour permettre la multiplication des micro-organismes au sein des réseaux de distribution. Toutefois, à l'inverse de l'oxydant, des calculs non rapportés ici montrent que les densités bactériennes mesurées dans le réseau de distribution ne sont pas corrélées à la concentration de matière organique résiduelle dans le système. Par contre, le logarithme de la densité bactérienne (exprimé en terme de cellules) est directement proportionnel à la quantité de carbone biodégradé dans le réseau ou ΔCOD (fig. 8). En se plaçant dans des conditions où le réseau de distribution ne contient plus d'oxydant résiduel, la répartition des points a permis d'établir deux relations linéaires quantitatives entre le ΔCOD, le nombre total de cellules fixées et le nombre total de cellules planctoniques.



**Figure 8** Relations entre le log de la densité bactérienne (épifluorescence), exprimé en cellules fixées.cm<sup>-2</sup> et en cellules planctoniques.ml<sup>-1</sup>, en fonction de la concentration en matière organique biodégradable (mg C.l.<sup>-1</sup>). Relationship between the density of attached and planktonic cells epifluorescence) expressed in log, and the concentration of biodegradable organic carbon in the experimental distribution system.

Comme le montre la figure 8, même sans consommation de COD, le réseau de distribution est spontanément colonisé par des micro-organismes apportés par l'eau, avec  $3 \cdot 10^6$  cellules fixées.cm<sup>-2</sup> et une eau chargée de  $3 \cdot 10^5$  cellules planctoniques.ml<sup>-1</sup>. Par contre, la consommation de carbone organique se traduit toujours par l'augmentation du nombre de cellules planctoniques et du nombre de cellules fixées (l'accroissement de ce dernier étant plus important). A titre d'exemple, une concentration de 0,1 mg.l<sup>-1</sup> de carbone organique biodégradable conduit à l'équilibre à une accumulation supplémentaire de  $7,5 \cdot 10^5$  cellules.cm<sup>-2</sup> de la densité du biofilm et de  $4 \cdot 10^4$  cellules.ml<sup>-1</sup> dans l'eau.

#### 4 - DISCUSSION ET CONCLUSION

Un réseau de distribution peut être défini comme un réacteur alimenté par un flux discontinu de matière organique, d'oxydant et de cellules, conduisant systématiquement à la formation d'un écosystème microbien relativement stable (biofilm) à l'interface solide-liquide (LECHEVALLIER *et al.*, 1987 ; VAN DER WENDE *et al.*, 1989 ; BLOCK *et al.*, 1992a) et à la modification des caractéristiques de l'eau distribuée (RITTMANN et SNOEYINK, 1984 ; MATHIEU *et al.*, 1991).

La maîtrise qualitative et quantitative de ces trois paramètres (CODB, oxydant, cellules) entraînerait une limitation de la densité bactérienne dans les réseaux de distribution et assurerait une qualité quasi constante de l'eau distribuée.

Dans la plupart des cas, la prépondérance est encore donnée aujourd'hui à l'application en post-désinfection d'un oxydant (chlore ou chloramine) dont on attend un effet sensible et constant sur les micro-organismes du réseau. Or il est largement reconnu que l'oxydant est le plus souvent rapidement consommé lors de la distribution. Il devient alors difficile de définir et de maintenir une concentration en oxydant résiduel capable de limiter sinon d'interdire la survie et/ou la multiplication des micro-organismes.

A titre d'exemple, nous montrons dans cette étude que dès les premières heures de transit dans le réseau, la concentration de l'oxydant résiduel diminue deux fois moins vite pour NH<sub>2</sub>Cl que pour Cl<sub>2</sub>. Après un temps de résidence hydraulique de 72 heures, seule la monochloramine est encore dosable dans le système pilote, témoignant d'une plus grande stabilité réactionnelle que le chlore (DORE, 1989).

Même si l'oxydant permet de partiellement limiter la densité bactérienne présente dans le réseau, sa consommation rapide a pour conséquence une efficacité limitée dans le temps. Ainsi, il n'interdit jamais la présence de cellules dans la phase eau, ni surtout l'accumulation d'un biofilm à la surface des canalisations (PAQUIN *et al.*, 1992). Ainsi, le système de distribution pilote

est colonisé par environ  $10^5$  à  $10^6$  cellules.cm<sup>-2</sup> et  $10^3$  à  $10^5$  cellules.ml<sup>-1</sup>, même pour un résiduel d'oxydant appliqué en continu à la concentration de 0,5 mgCl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup>. De plus, les bactéries fixées au sein d'un biofilm sont reconnues comme mieux protégées de l'effet des désinfectants (EXNER *et al.*, 1987 ; HERSON *et al.*, 1987 ; LECHEVALLIER *et al.*, 1988 ; MATHIEU *et al.*, 1990). A ce titre, nous avons mis en évidence que les UFC fixées résistaient mieux au désinfectant (chlore ou chloramine) que les cellules ou les UFC de la phase eau, ce qui préjuge mal d'un contrôle parfait des micro-organismes dans un réseau de distribution par le seul usage d'un désinfectant.

Le choix d'un désinfectant (chlore *versus* chloramine) a fait l'objet de discussions récentes depuis la publication de LECHEVALLIER *et al.* (1990), montrant que dans certains cas les chloramines pourraient être plus efficaces que le chlore vis-à-vis des bactéries fixées. Les conclusions de LECHEVALLIER *et al.* (1990) sont cependant altérées par les conditions opératoires testées (biofilm monospécies, milieu nutritif synthétique).

Aussi, pour l'heure, nos travaux conduits sur un système industriel avec des eaux traitées naturelles et une population microbienne complexe montrent clairement, en accord avec STEVEN et SYMONS (1986), JAFVERT et VALENTINE (1987), BERMAN *et al.* (1988), YAMAMOTO *et al.* (1988), que les chloramines sont nettement moins efficaces que le chlore, aussi bien vis-à-vis des bactéries en suspension que des bactéries fixées à la paroi des tuyaux de distribution.

Au-delà de la discussion sur le choix de l'oxydant, il apparaît surtout que la densité bactérienne du réseau doit être gérée par un paramètre autre et complémentaire de l'action de l'oxydant. En effet, la seule inactivation des bactéries d'un réseau alimenté avec une eau traitée naturelle (contenant de la matière organique et des cellules bactériennes) oblige à maintenir des concentrations résiduelles trop élevées en distribution (i.e. largement supérieures à 0,5 mgCl<sub>2</sub>.l<sup>-1</sup> en résiduel), rendant l'eau désagréable au goût et générant des produits organohalogénés (MEYER, 1992).

La stabilité bactériologique d'une eau potable distribuée exige alors le contrôle de la qualité nutritionnelle de l'eau, i.e. la quantité de matière organique dissoute (COD) et biodégradable (CODB) (LEVI, 1990). Cette fraction biodégradable, estimée par un test en laboratoire utilisant une population mixte comme réactif biologique, représente généralement 20 à 30 % de la matière organique. Ces résultats sont en accord avec ceux d'études réalisées par JORET *et al.* (1989), LUCENA *et al.* (1990), MATHIEU *et al.* (1991), BLOCK *et al.* (1992b).

Classiquement, au cours de la distribution, la fraction biodégradable et du même coup le COD, ont tendance à diminuer (KAPLAN et BOTT, 1990 ; VAN DER KOOIJ, 1990 ; CAPELLIER *et al.*, 1991 ; LECHEVALLIER *et al.*, 1991 ; MATHIEU *et al.*, 1991) avec comme corollaire immédiat une prolifération de micro-organismes (OLSON et NAGY, 1984 ; VAN DER KOOIJ et HIJNEN, 1990 ; LECHEVALLIER *et al.*, 1991). Cependant, des augmentations de matière carbonée ont pu être décelés pour des temps de séjour longs (2 10 jours) (HAUDIDIER *et al.*, 1988 ; MATHIEU *et al.*, 1991).

Les concentrations de COD consommé au cours de la distribution sont relativement faibles, du point de vue de l'analyste, mais suffisent à soutenir un développement bactérien dans le réseau de distribution.

Aussi, les données recueillies sur notre réseau de distribution expérimental indiquent qu'une concentration de  $100 \mu\text{gC.l}^{-1}$  de matière organique biodégradable (CODB) entraîne une augmentation sensible du nombre de bactéries dans le réseau et permet l'accumulation à l'équilibre de  $7,5 \cdot 10^5$  cellules. $\text{cm}^{-2}$  et  $4 \cdot 10^4$  cellules. $\text{ml}^{-1}$  en plus de la biomasse déjà existante. Cette observation est plus sévère encore que la valeur seuil de  $200 \mu\text{g.l}^{-1}$  en CODB dans les eaux en sortie d'usine proposée par SERVAIS *et al.* (1991), et montre surtout que, dans l'état actuel de nos connaissances, les exigences que l'on doit avoir pour l'efficacité du traitement biologique de l'eau sont extrêmement drastiques.

Pour l'heure, la recherche d'une combinaison optimale entre concentrations minimales d'une part en matière organique biodégradable (CODB), et d'autre part en désinfectant résiduel, reste un objectif primordial.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un large programme de recherches sur la "Maîtrise de la qualité des eaux de distribution" associant le Centre International de l'Eau, le G.I.P. Stelor, Pont-à-Mousson S.A., la Compagnie Générale des Eaux, Anjou Recherche, l'Agence de Bassin Seine-Normandie, le Syndicat des Eaux d'Île de France et l'Agence pour la Protection de l'Environnement des Etats-Unis (USEPA).

Les auteurs tiennent tout particulièrement à remercier V. Gauthier pour la qualité constante de son travail sur le système pilote et la stimulante discussion de ces résultats.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFNOR NF T90 402 : Essais des eaux – Dénombrement des micro-organismes revivifiables – Comptage des colonies obtenues à  $20^\circ\text{C}$  (méthode par incorporation en gélose), août 1984.
- BERMAN D., RICE E.W., HOFF J.C., 1988, Inactivation of particule-associated coliforms by chlorine and monochloramine, *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 507-512.
- BLOCK J.C., HAUDIDIER K., PAQUIN J.L., MIAZGA J., LEVI Y., 1992a, Biofilm accumulation in drinking water distribution systems, *Biofouling* (sous presse).

- BLOCK J.C., MATHIEU L., SERVAIS P., FONTVIEILLE D., WERNER P., 1992b, Indigenous bacterial inocula for measuring the biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) in waters, *Wat. Res.*, 26, 481-486.
- BLOCK J.C., PAQUIN J.L., COLIN F., MIAZGA J., LEVI Y., 1991, Accumulation de bactéries sur différents types de matériaux : étude comparative en réseau de distribution, *Séminaire : Adhésion des micro-organismes aux surfaces solides*, INRA, Massy.
- CAPELLIER M., PICOCHÉ C., NOVAK S., DEGUIN A., 1991, Devenir du CODB au cours du traitement et dans le réseau de distribution, *Séminaire international Biodegradable organic matter in drinking water distribution systems*, Nancy, 2-3 oct. 1991.
- COLIN F., GRAPIN G., CHERON J., LEVI Y., POZZOLI B., MIAZGA J., PASCAL O., 1987, Etude de l'évolution de la qualité de l'eau potable dans les réseaux de distribution : une approche et des moyens nouveaux, *Tech. Sci. Munic. l'Eau*, 12, 565-574.
- DORÉ M., 1989, *Chimie des oxydants. Traitement des eaux*, Technique et Documentation Lavoisier, Paris, 505 p.
- EXNER M., TUSCHEWITZKI G.J., SCHARNAGEL J., 1987, Influence of biofilms by chemical disinfectants and mechanical cleaning, *Zbl. Bakt. Hyg.*, 183, 549-563.
- HAUDIDIER K., PAQUIN J.L., FRANÇAIS T., HARTEMANN P., GRAPIN G., COLIN F., JOURDAIN M.J., BLOCK J.C., CHERON J., PASCAL O., LEVI Y., MIAZGA J., 1988, Biofilm growth in a drinking water network : a preliminary industrial pilot-plant experiment, *Wat. Sci. Techn.*, 20, 109-115.
- HERSON D.S., Mc GONIGLE B., PAYER M.A., BAKER K.H., 1987, Attachment as a factor in the protection of *Enterobacter cloacae* from chlorination, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 1178-1180.
- JAFVERT C.T., VALENTINE R.L., 1987, Dichloramine decomposition in the presence of excess ammonia, *Wat. Res.*, 21, 967-973.
- JORET J.C., LEVI Y., GILBERT M., 1989, The measurement of bioeliminable dissolved organic carbon (BDOC) : a tool in water treatment *Wat. Supply*, 7, P4-1, P4-5.
- KAPLAN L.A., BOTT T.L., 1990, Nutrient for bacterial growth in drinking water : bioassay evaluation, USEPA Report, Research and development, EPA/600/S2-89/030, 7 p.
- LECHEVALLIER M.W., BABCOCK T.M., LEE R.G., 1987, Examination and characterization of distribution system biofilms, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 2714-2724.
- LECHEVALLIER M.W., CAWTHON C.D., LEE R.G., 1988, Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies, *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 649-654.
- LECHEVALLIER M.W., LAWRY C.D., LEE R.G., 1990, Disinfecting biofilms in a model distribution system, *J. Amer. Wat. Works Ass.*, 82, 87-99.
- LECHEVALLIER M.W., SCHULZ W., LEE R.G., 1991, Bacterial nutrients in drinking water, *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 857-862.
- LEVI Y., 1990, Importance du contrôle du carbone organique dissous biodégradable (CODB) dans la stratégie de maintien de la qualité de l'eau potable au cours de la distribution, *Compte-rendu du 2ème Atelier sur l'eau potable*, A.Q.T.E., Montréal, 273-282.
- LUCENA F., FRIAS J., RIBAS F., 1990, A new dynamic approach to the determination of biodegradable dissolved organic carbon in water *Environ. Technol.*, 12, 343-347.
- MATHIEU L., DOLLARD M.A., BLOCK J.C., JOURDAN-LAFORTE E., 1990, Effet de l'acide peracétique sur des bactéries en suspension et fixées, *J. Fr. Hydrol.*, 21, 101-111.
- MATHIEU L., BLOCK J.C., FLORENTZ M., TREPAGNE P., 1991, Devenir de la matière organique biodégradable dans un réseau de distribution d'eau, *Compte-rendu du 3ème Atelier sur l'eau potable*, A.Q.T.E., Montréal.
- MEYER I., 1992, Suivi des sous-produits de la chloration et de leur précurseur de l'eau brute à l'eau distribuée, Thèse en Chimie et Microbiologie de l'Eau de l'Université de Nancy, 260 p.
- OLSON B.H., NAGY L.A., 1984, Microbiology of potable water, *Advances in Applied Microbiology*, 30, 73-129.
- PAQUIN J.L., HARTEMANN P., BLOCK J.C., COLIN F., MIAZGA J., LEVI Y., 1992, Effet

- du chlore sur la colonisation bactérienne d'un réseau expérimental de distribution d'eau, *Sciences de l'Eau*, 5, 399-414.
- RITTMANN B.E., SNOEYINK V.L., 1984, Achieving biologically stable drinking water, *J. Am. Wat. Works Ass.*, 76, 106-114.
- SERVAIS P., ANZIL A., VENTRESQUE C., 1989, Simple method for determination of biodegradable dissolved organic carbon in water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 2732-2734.
- SERVAIS P., BILLEN G., LAURENT P., LEVI Y., RANDON G., 1991, Etude de la dynamique du CODB et des bactéries dans le réseau de distribution de la banlieue nord de Paris, Séminaire international *Biodegradable organic matter in drinking water distribution systems*, Nancy, 2-3 oct. 1991.
- STEVEN A.A., SYMONS J.M., 1986, Alternative disinfection processes, *Organic carcinogens in drinking water*, chapitre 10, Ram N.M., Calabrese E. and Christman R.F. (Eds), 265-289, John Wiley, New York.
- VAN DER KOOIJ D., 1990, Assimilable organic carbon (AOC) in drinking water, *Drinking water microbiology*, Chapter 3, 57-87, Mc Feters G.A. (Ed.), Springer-Verlag, New York.
- VAN DER KOOIJ D., HIJNEN W.A.M., 1990, Criteria for defining the biological stability of drinking water as determined with AOC measurements, in *Proceedings of AWWA Water Quality Technology Conference*, San Diego, California, Nov. 1990, 11-15.
- VAN DER WENDE, CHARACKLIS W.G., SMITH D.B., 1989, Biofilms and bacterial drinking water quality, *Wat. Res.*, 23, 1313-1322.
- YAMAMOTO K., FUKUSHIMA M., ODA K., 1988, Disappearance rates of chloramines in river water, *Wat. Res.*, 22, 79-84.