UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

INFLUENCE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE BIODÉGRADABLE, DES ACIDES AMINÉS ET DE LA CHLORATION SUR LA CROISSANCE BACTÉRIENNE EN RÉSEAU DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE

CARL GAUTHIER

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

THÈSE PRÉSENTÉE EN VUE DE L'OBTENTION

DU DIPLOME DE PHILOSOPHIAE DOCTOR (Ph.D.)

(GÉNIE CIVIL)

DÉCEMBRE 1997

© Carl Gauthier, 1997.

National Library of Canada
Bibliothèque nationale du Canada

Acquisitions and Bibliographic Services
Acquisitions et services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-33003-6

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Cette thèse intitulée :

INFLUENCE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE BIODÉGRADABLE, DES ACIDES AMINÉS ET DE LA CHLORATION SUR LA CROISSANCE BACTÉRIENNE EN RÉSEAU DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE

présentée par : GAUTHIER Carl

en vue de l'obtention du diplôme de Philosophiae Doctor

a été dûment acceptée par le jury d'examen constitué de :

M. DESJARDINS Raymond, M.ing., président

Mme. PRÉVOST Michèle, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. COMEAU Yves, Ph.D., membre

M. SERVAIS Pierre, Ph.D., membre

REMERCIEMENTS

Ce travail a été rendu possible grâce à la participation financière des partenaires de la Chaire industrielle en eau potable de l'École Polytechnique de Montréal. Je tiens à remercier ces partenaires : le CRSNG, la Ville de Montréal, la Ville de Laval, le Groupe Compagnie Générale des Eaux-John Meunier et la firme d'ingénieurs-conseils Vallée Lefebvre et associés. Je tiens à remercier spécialement le CRSNG et le FCAR pour leur soutien direct sous la forme de bourses d'études.

Je veux exprimer toute ma gratitude à Mme Michèle Prévost, ma directrice de recherche, pour son soutien scientifique de haut niveau mais aussi pour toute la confiance manifestée à mon endroit. Je remercie Messieurs Raymond Desjardins, Yves Comeau et Pierre Servais pour avoir accepté de juger ce travail.

Je désire exprimer une reconnaissance particulière à Mme Nicole Merlet et à M. Bernard Legube pour m'avoir accueilli si chaleureusement au Laboratoire de chimie des eaux et des nuisances de l'École Supérieure d'Ingénieur de Poitiers.

Je souhaite remercier les membres permanents de la chaire en eau potable qui, chacun à leur façon, m'ont aidé à maintes reprises avec enthousiasme et professionnalisme, soit :

Josée Coallier, Sylvianne Desautels, Jacinthe Mailly, Julie Philibert, Catherine Poirier, Annie Rompré, Denis Allard, Benoit Barbeau et Stéphane Perron.

Je tiens finalement à exprimer ma reconnaissance pour le travail réalisé par plusieurs étudiants avec lesquels j'ai collaboré soit : Lina Hureiki, stagiaire post-doctorale, Roudja Serkedjieva, Anne Boucard, Cristina Soïca et Patrick Laurent.

RÉSUMÉ

Les 3 thèmes abordés dans cette thèse sont : 1) l'effet de la filtration biologique sur la stabilité microbiologique de l'eau ; 2) les acides aminés en tant que composants de la matière organique biodégradable et 3) la désinfection du biofilm. Ces trois thèmes sont reliés au contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution d'eau potable.

Dans la première partie de cette thèse, la stabilité microbiologique d'une eau filtrée sur charbon actif biologique (CAB) a été comparée à celle d'une eau n'ayant pas été soumise à cette étape de filtration. Un montage de 8 réacteurs annulaires de fonte et de 3 réacteurs annulaires de polycarbonate a été utilisé. L'effet de la chloration ainsi que celui du matériau ont aussi été étudiés. La densité de la biomasse fixée a été évaluée par la méthode de l'activité exoprotéolytique potentielle ainsi que par des dénombrements de bactéries hétérotrophes aérobies (BHA) sur gélose. La biomasse libre a été évaluée par des comptes directs totaux par microscopies en épifluorescence précédés par une coloration à l'orangé acridine. Les résultats montrent que la filtration biologique limite la densité de la biomasse fixée à court temps de séjour (1h) mais que cet effet n'est pas perceptible après un long temps de séjour (15h). L'utilisation de réacteurs de matériaux différents (fonte, polycarbonate) a permis de montrer que la biomasse fixée sur les parois de fonte des réacteurs est plus dense que celle fixée sur les parois des réacteurs de polycarbonate. La biomasse fixée dans les réacteurs en fonte a été très peu affectée par la

chloration de l'affluent des réacteurs, possiblement à cause de la grande réactivité des particules de corrosion qui protège cette biomasse de l'action du chlore. Cette observation suggère que le contrôle de la corrosion devrait être un objectif important de tout programme de contrôle de la recroissance bactérienne.

Dans la seconde partie de cette thèse, la biodégradabilité des acides aminés libres et des acides aminés totaux (AAT) (libres et combinés à des molécules complexes) ainsi que l'enlèvement de ces composés par différents procédés de traitement ont été étudiés. Les acides aminés libres ont été mesurés par chromatographie liquide haute performance (CLHP). La mesure des acides aminés totaux (AAT) a elle aussi été réalisée par CLHP mais après une hydrolyse acide des échantillons. La coagulation-floculation-décantation permet les meilleurs enlèvements d'AAT suivi par la filtration CAB. L'ozonation provoque généralement une augmentation de la teneur en acides aminés totaux. Ce phénomène peut être expliqué par l'oxydation partielle par l'ozone de molécules complexes contenant des acide aminés, ce qui permet d'augmenter la récupération d'acides aminés suite à l'étape d'hydrolyse acide. L'enlèvement des acides aminés totaux par la filtration sur CAB montre que ce paramètre correspond à un cinquième de la matière organique biodégradable enlevée par ce traitement ainsi qu'à un tiers de la demande en chlore enlevée par ce procédé de traitement. Ces résultats viennent préciser la contribution des acides aminés totaux à la matière organique biodégradable et expliquent en partie l'enlèvement de la demande en chlore par la filtration sur CAB.

Un montage de 4 réacteurs annulaires de polycarbonate a permis de mettre en évidence l'augmentation de la biomasse fixée causée par de très faibles doses d'acides aminés libres (0,1 mg C/l). La modélisation de ces résultats et de ceux obtenus lors de la première partie de ce travail a permis de vérifier la validité du modèle MERLIN pour l'analyse des résultats obtenus en réacteurs annulaires. Ce modèle est dérivé du modèle SANCHO qui avait été développé pour prédire l'évolution de la qualité de l'eau en réseau de distribution. La validité du modèle MERLIN a été testée en analysant des résultats provenant de réacteurs annulaires.

Finalement, la dernière partie de cette thèse décrit l'impact de la chloration sur la composition et la demande en chlore d'un biofilm d'eau potable. Des essais en réacteurs annulaires de polycarbonate ont été effectués pour mettre en évidence la réactivité du chlore envers un biofilm d'eau potable. Les acides aminés totaux représentent environ 2 % du carbone organique total (COT) du biofilm et 17% de la demande en chlore du biofilm. Ces résultats suggèrent que d'autres composés non identifiés sont responsables de la plus grande part de la demande en chlore du biofilm. Finalement, la demande en chlore 4 heures d'une suspension de biofilm est 2,5 fois plus grande que celle exercée par un biofilm n'ayant pas été resuspendu. Ces derniers résultats suggèrent que la structure du biofilm offre une protection contre l'attaque du chlore, puisque certains sites réactifs y sont relativement à l'abri de la chloration, et ce pour une période de 4 heures à un taux de chlore initial de 5 mg/l et final supérieur à 2,5 mg/l.

ABSTRACT

The three themes developed in this thesis are : 1) the effect of biological filtration on the microbiological stability of drinking water ; 2) the aminoacids and their participation in biodegradable organic matter and 3) the disinfection of biofilm. They are all related to the control of bacterial regrowth in drinking water distribution system.

In the first part of this work, the biological stability of a water filtered on biological activated carbon (BAC) was compared to that of a water not submitted to this treatment process. To this end, an experimental setup composed of 8 gray iron annular reactors and 3 polycarbonate annular reactors was used. The effect of chlorination as well as the effect of support media on the water biological stability were also investigated.

Fixed biomass density were evaluated by the potential exoproteolytic activity method (EPA) and by the heterotrophic bacteria plate count method (HPC). Free bacterial numbers were measured with total direct counts by epifluorescence microscopy using acridine orange. Results show that biological filtration diminished the fixed biomass density at short water residence time but this effect was not conveyed to longer water residence time. The use of reactors made of different materials led to the observation that the fixed biomass density supported by grey iron was superior to that supported by polycarbonate. Also, the fixed biomass established in grey iron reactors was not affected

by the disinfection implemented in affluent water. This phenomenon was probably caused by the high reactivity of corrosion particles with chlorine shielding the fixed biomass from the action of the disinfectant. This observation suggests that corrosion control should be an important part of any regrowth prevention program.

In the second part of this work, the biodegradability of free and combined aminoacids as well as their removal by water treatment processes were investigated.

Aminoacids were measured by high performance liquid chromatography (HPLC). The determination of total aminoacids (TAA) was also realized by HPLC but after acid hydrolysis of samples. The coagulation-flocculation-settling process realized the best total aminoacid removals followed by BAC filtration. Ozonation generally caused increases in TAA concentrations. This phenomenon can be explained by a partial oxidation by ozone of various molecules containing aminoacids, resulting higher percentages of recovery following acid hydrolysis. The removal of TAA by BAC filtration revealed that the compounds included in the TAA parameter accounted for a fifth of the biodegradable organic matter and for a third of the chlorine demand removed in a BAC filter. These results refine our comprehension of the contribution of TAA to the biodegradable organic matter and our knowledge of the origin of chlorine demand and biodegradable organic matter removal realized by BAC filtration.

An experimental setup of 4 polycarbonate annular reactors was used to quantify the effect of small quantities of free aminoacids (0,1 mg C/l) on fixed biomass density. A modeling of the results obtained with this experiment and with the experiment presented in the first part of this thesis was realized in order to verify the applicability of the MERLIN model to the analysis of results obtained in annular reactors.

In the last part of this thesis, the impact of chlorination on the composition and chlorine demand of a drinking water biofilm was studied. Experiments in polycarbonate annular reactors were carried out in order to show the chlorine reactivity of a drinking water biofilm. TAA represented 2% of the biofilm total organic carbon (TOC) and 17% of its chlorine demand. These results suggest that other compounds, yet unidentified, were responsible for most of the biofilm chlorine demand. The 4-hour chlorine demand exerted by a suspension of biofilm was 2.5 times greater than that of a biofilm on its polycarbonate support. These last results suggest that the biofilm structure, altered in biofilm suspensions, protects from chlorination a significant part of the chlorine reactive sites of the biofilm. This holds true for a duration of 4 hours with an initial concentration of 4 mg Cl_2/l and a final concentration of no less than 2.5 mg Cl_2/l.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS iv

RÉSUMÉ vi

ABSTRACT ix

TABLE DES MATIÈRES xii

LISTE DES TABLEAUX xix

LISTE DES FIGURES xxi

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS xxvi

LISTE DES ANNEXES xxvii

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 : EFFICACITÉ DE LA FILTRATION BIOLOGIQUE DANS LE CONTRÔLE DE LA RECROISSANCE BACTÉRIENNE EN RÉSEAU DE DISTRIBUTION 7

1.1 Mise en contexte 7

1.2 Introduction 7

1.2.1 Importance du contrôle de la croissance bactérienne dans les réseaux de distribution d'eau potable 7

1.2.2 Limites de la chloration de l'eau: aspects chimiques 10

1.2.3 Limites de la chloration de l'eau : aspects bactériologiques 12

1.2.4 Croissance bactérienne et matière organique biodégradable 13

1.2.5 Enlèvement de la matière organique biodégradable par la filtration biologique .. 15

1.3 Objectifs 16

1.4 Matériel et méthodes 17

1.4.1 Usine Ste-Rose 17

1.4.2 Description des réacteurs annulaires 19

1.4.3 Montage expérimental 22

1.4.3.1 Description 22

1.4.3.2 Pré-traitement des réacteurs de polycarbonate 26

1.4.3.3 Conditions d'alimentation 26

1.4.4 Echantillonnage des réacteurs 29

1.4.5 Méthodes analytiques 31

1.4.5.1 Biomasse fixée évaluée à l'aide de la méthode de l'AEP et par des dénombrements de BHA 31

1.4.5.2 Bactéries libres : dénombrements par microscopie en épifluorescence 32

1.4.6 Paramètres physico-chimiques 33

1.5 Résultats et discussion 33

1.5.1 Réacteurs de fonte 34

1.5.1.1 Biomasse fixée évaluée à l'aide de la méthode de l'AEP 34

1.5.1.2 Biomasse fixée mesurée par les dénombrements de BHA 37

1.5.1.3 Consommation de CODB 40

1.5.1.4 Biomasse libre mesurée par microscopie en épifluorescence 41

1.5.2 Réacteurs de polycarbonate 47

1.5.2.1 Biomasse fixée : méthode de l'AEP 47

1.6 Comparaisons : réacteurs de fonte et réacteurs de polycarbonate 49

1.7 Comparaisons : Méthode de l'AEP et dénombrements de BHA 52

1.8 Comparaisons : réacteurs annulaires et réseaux de distribution 54

1.9 Conclusion 57

CHAPITRE II : LES ACIDES AMINÉS: EFFICACITÉ DES TRAITEMENTS ET DEVENIR DANS LES RÉSEAUX DE DISTRIBUTION 60

2.1 Mise en contexte 60

2.2 Introduction 60

2.3 Matériel et méthodes 61

2.3.1 Filières de traitement 61

2.3.2 Analyse des acides aminés 63

2.3.2.1 Quantification et limites de détection 63

2.3.2.2 Évaluation du rendement d'hydrolyse 65

2.3.3 Analyse du COD et du CODB 67

2.4 Résultats 68

2.4.1 Eau brute 70

2.4.2 Eau décantée 71

2.4.3 Eau filtrée sur sable et anthracite 71

2.4.4 Eau ozonée 72

2.4.5 Eau filtrée sur charbon actif biologique (CAB) 72

2.4.6 Eau désinfectée par le bioxyde de chlore ou par le chlore 73

2.4.7 Réseaux de distribution 75

2.4.8 Corrélation entre la teneur en acides aminés totaux et le CODB 78

2.5 Conclusion 80

CHAPITRE III : ENLÈVEMENT DES ACIDES AMINÉS, DU CARBONE ORGANIQUE BIODÉGRADABLE ET DE LA DEMANDE EN CHLORE PAR LA FILTRATION BIOLOGIQUE 82

3.1 Mise en contexte 82

3.2 Résumé 82

3.3 Abstract 83

3.4 Extended abstract 84

3.5 Introduction 87

3.6 Matériel et méthodes 91

3.6.1 Description de l'usine Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada) 91

3.6.2 Procédures générales d'échantillonnage et de laboratoire 92

3.6.3 Analyse des acides aminés 92

3.6.4 Dosage du chlore 93

3.6.4.1 Préparation et dosage des solutions mères de chlore 93

3.6.4.2 Consommation de chlore : méthode spectrophotométrique à la DPD 93

3.6.5 Mesure du carbone organique dissous et du carbone organique dissous biodégradable 94

3.6.6 Modèle CHABROL 94

3.7 Résultats et discussion 95

3.8 Conclusion 102

3.9 Remerciements 102

3.10 Liste des figures 103

3.11 Liste des tableaux 103

CHAPITRE IV : INFLUENCE DU CODB ET DES ACIDES AMINÉS LIBRES SUR LA STABILITÉ MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU POTABLE : RÉSULTATS DE SIMULATIONS AVEC DES RÉACTEURS ANNULAIRES 108

4.1 Mise en contexte 108

4.2 Introduction 108

4.3 Matériel et méthodes 110

4.3.1 Montage de réacteurs annulaires 110

4.3.2 Analyse des acides aminés 112

4.3.3 Mesure du carbone organique dissous et du carbone organique dissous biodégradable 113

4.3.4 Mesure de l'activité exoprotéolytique 114

4.3.5 Bactéries libres 115

4.3.6 Modèle MERLIN 115

4.4 Résultats 116

4.4.1 Modélisation de résultats expérimentaux provenant des réacteurs de fonte de l'usine Ste-Rose, (Ville de Laval, Québec, Canada) 117

4.4.2 Réacteurs de polycarbonate : biodégradabilité des acides aminés libres 120

4.4.2.1 Résultats expérimentaux 120

4.4.2.2 Modélisation des résultats expérimentaux obtenus en laboratoire 125

4.5 Conclusion 129

CHAPITRE V : IMPACT DE LA CHLORATION SUR LA DEMANDE EN CHLORE ET LA TENEUR EN ACIDES AMINÉS D'UN BIOFILM D'EAU POTABLE 131

5.1 Mise en contexte 131

5.2 Abstract 131

5.3 Introduction 132

5.4 Equipment and methods 134

5.4.1 Total organic carbon 134

5.4.2 Total aminoacids 135

5.4.3 Chlorine demand 135

5.4.4 Total bacteria counts 136

5.4.5 Annular reactor 136

5.4.6 Chlorine demand of the reactors prior to seeding 137

5.4.7 Seeding the reactors 138

5.4.8 Chlorinating the reactors 138

5.5 Results 140

5.5.1 Reactor chlorination 140

5.5.2 Chlorine demands of biofilm suspensions and of whole slides (intact biofilm) ... 146

5.6 Discussion 149

5.7 Conclusion 151

CONCLUSION SYNTHÈSE **158**

CONCLUSION GÉNÉRALE **164**

RÉFÉRENCES **167**

ANNEXES **184**

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Principales caractéristiques de l'eau brute de l'usine Ste-Rose. 18

Tableau 1.2 Dimensions et composantes des réacteurs annulaires de fonte et de polycarbonate. 21

Tableau 1.3 Principales caractéristiques de l'eau alimentant les différents réacteurs..... 28

Tableau 1.4 Enlèvements moyens de CODB en absence de chlore par les réacteurs et par la filtration biologique de l'usine Ste-Rose. 41

Tableau 1.5 Taux unitaires d'enlèvement moyen du CODB par la biomasse fixée des réacteurs en l'absence de chlore. 41

Tableau 1.6 Comparaison des moyennes de densité de biomasse fixée (méthode de l'AEP) dans les réacteurs de fonte et dans les réacteurs de polycarbonate. 50

Tableau 1.7 Ordre de grandeur des densités de biomasse fixée dans les réseaux Ste-Rose et Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada) en été ainsi que dans les réacteurs de fonte chlorés. 56

Tableau 2.1 Limites de détection expérimentales (Lower limit of Detection) pour l'analyse des acides aminés par CLHP. 65

Tableau 3.1 Résumé des résultats obtenus en eau froide (< 2°C : 04.13.94) lors du suivi de la demande en chlore, du COB, du CODB, du COT, du COD, des AAT et des AATD à différentes profondeurs dans un filtre biologique. 106

Tableau 3.2 Comparaison de l'enlèvement de CODB dans un filtre biologique mesuré expérimentalement avec l'enlèvement de CODB estimé par le modèle CHABROL. 107

Tableau 4.1 Comparaisons entre les simulations MERLIN et les résultats expérimentaux de biomasse fixée et de consommation de CODB dans les réacteurs annulaires de fonte alimentées avec de l'eau filtrée CAB et de l'eau ozonée. 118

Tableau 4.2 Résumé des résultats obtenus pendant la période de d'équilibre. 123

Tableau 4.3 Densités de biomasse fixée et consommations de COD à l'équilibre suggérées par le modèle MERLIN pour les essais avec différentes doses d'acides aminés. 126

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Filière de traitement de l'usine de production d'eau potable de Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada). 18

Figure 1.2 Coupe transversale d'un réacteur annulaire (adapté de Serkedjieva, 1996). .. 20

Figure 1.3 Montage pilote de réacteurs annulaires utilisé à l'usine de Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada). 25

Figure 1.4 Évolution de la température de l'eau des différents réacteurs. 28

Figure 1.5 Incubateur permettant de transporter les coupons après l'échantillonnage. ... 30

Figure 1.6 Évolution de la biomasse fixée dans les réacteurs annulaires mesurée par la méthode de l'AEP 36

Figure 1.7 Évolution de la biomasse fixée dans les réacteurs annulaires par des dénombrements de BHA. 38

Figure 1.8 Valeurs moyennes de biomasse fixée dans les réacteurs annulaires mesurées par des dénombrements de BHA sur gélose et par la méthode de l'AEP. 39

Figure 1.9 Évolution des comptes totaux de bactéries libres pour les réacteurs alimentés avec de l'eau ozonée. 42

Figure 1.10: Évolution des comptes totaux de bactéries libres pour les réacteurs alimentés avec de l'eau filtrée sur CAB. 43

Figure 1.11 Comparaison des valeurs moyennes de dénombrements totaux de bactéries par microscopie en épifluorescence. 44

Figure 1.12 Mesure de la densité de biomasse fixée dans les réacteurs de polycarbonate par la méthode de l'AEP. 48

Figure 1.13 Mesure de la densité de biomasse libre par dans les réacteurs annulaires alimentés par de l'eau ozonée (dénombrements directs totaux en épifluorescence avec coloration à l'orangé acridine). 49

Figure 2.1 Description de deux usines de production d'eau potable de la Ville de Laval (Québec, Canada). 62

Figure 2.2 Pourcentage de récupération des 15 acides aminés libres pour trois conditions d'hydrolyse. 67

Figure 2.3 Variations saisonnières de la concentration en acides aminés totaux dans la filière de traitement de l'usine Chomedey, Ville de Laval, Québec, Canada (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable-anthracite, EO3: eau ozonée, EU: effluent usine). 69

Figure 2.4 Variations saisonnières de la concentration en acides aminés totaux dans la filière de traitement de l'usine Ste-Rose, Ville de Laval, Québec, Canada (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable-anthracite, EO3: eau ozonée, EFCAB : eau filtrée charbon actif biologique, EU: effluent usine). . 70

Figure 2.5: Évolution de la concentration en acides aminés totaux et du CODB dans la filière de traitement et le réseau de l'usine Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada). 76

Figure 2.6 Évolution de la concentration en acides aminés totaux et du CODB dans la filière de traitement et le réseau de l'usine Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada). 77

Figure 3.1 Schéma d'écoulement de l'usine de production d'eau potable Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada). 103

Figure 3.2 Profils d'enlèvement des acides aminés totaux (AAT) et des acides aminés totaux dissous (AATD) dans un filtre biologique. 103

Figure 3.3 Profils d'enlèvement des trois classes de CODB (S, H1 et H2) du modèle CHABROL avec le profil d'enlèvement des AATD dans un filtre biologique. 104

Figure 3.4 Profil d'enlèvement de la demande en chlore corrigée pour N-NH4 dans un filtre biologique. 104

Figure 3.5 Comparaison des profils d'enlèvement de la demande en chlore de l'eau corrigée pour la demande de N-NH_4 après 240 heures avec celui de la demande en chlore théorique des acides aminés dissous (AAD) et des acides aminés totaux (AAT). 105

Figure 4.1 Montage de réacteurs annulaires utilisé pour quantifier l'effet de l'ajout d'acides aminés libres sur la stabilité microbiologique d'une eau potable. .. 112

Figure 4.2 Évolution de la biomasse fixée dans les réacteurs annulaires en fonction de l'alimentation en acides aminés. 121

Figure 4.3 Consommation de COD dans les réacteurs à l'équilibre. 123

Figure 4.4 Consommation de 14 acides aminés libres par les réacteurs à l'équilibre.... 124

Figure 4.5 Corrélations entre les valeurs calculées par le modèle MERLIN et les valeurs expérimentales pour la biomasse fixée et la consommation de COD à l'équilibre. 127

Figure 5.1 Experiment 1 and 2 annular reactor assemblies and their operating conditions. 152

Figure 5.2 Evolution of the chlorine demand of the polycarbonate reactors preconditioned with solutions of nitric acid (10%) and chlorine (100 $mg.l^{-1}Cl_2$), and the chlorine demand of the ultra-pure water..... 153

Figure 5.3 Evolution of concentrations of residual and total free chlorine at the outflow of the chlorinated reactor 1A (dose applied: 1.50 $mg.l^{-1}Cl_2$ up to 24 hours and 1.25 $mg.l^{-1}Cl_2$ thereafter)..... 153

Figure 5.4 Evolution of the free bacteria at the effluent of the polycarbonate reactors slides after different chlorination times in reactor 1A. 154

Figure 5.5 Evolution of the fixed biomass density of the biofilm suspensions taken from polycarbonate slides after different chlorination times in reactor A1. 154

Figure 5.6 Evolution of 4-hour chlorine demands of whole slides per cm^2 of surface and by 10^9 fixed bacteria (rate of chlorination of 5 mg/l) after different chlorination times in reactor A1. 155

Figure 5.7 Evolution of the TAA content of the biofilm suspensions taken from polycarbonate slides after different chlorination times in reactor A1. 155

Figure 5.8 Four-hour chlorine demands of biofilm suspensions (from exposed face) and of suspensions from the BACK face of slides sampled in reactor B..... 156

Figure 5.9 Four-hour chlorine demand of whole slides and scraped slides sampled in. 157

LISTE DES SIGLES ET DES ABRÉVIATIONS

AAT	Acides aminés totaux
AATD	Acides aminés totaux dissous
BDOC	Biodegradable dissolved organic carbon
CAB	Charbon actif biologique
Cl_2	Chlore
COB	Carbone organique biodégradable
COD	Carbone organique dissous
CODB	Carbone organique dissous biodégradable
COT	Carbone organique total
DOC	Dissolved organic carbon
EBCT	Empty bed contact time
MOB	Matière organique biodégradable
O_3	Ozone
SA	Sable-anthracite
TAA	Total aminoacids
TCFV	Temps de contact en fût vide
TDAA	Total dissolved aminoacids
TOC	Total organic carbon

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Rapport AWWARF : Microbial Impact of Biological Filtration, chapitre 3, Impact of reducing biodegradable organic matter on fixed and suspended biomass in distribution systems. Rompré A. et Prévost M. (1996).....184.

Annexe 2 : Étude de l'évolution des acides aminés totaux dans deux filières de traitements d'eau potable : Hureïki, L., Gauthier, C., Prévost, M. et Lafrance P. (1996), Revue des Sciences de l'Eau., 3, 297-318. 240

Annexe 3 : Résultats bruts..... 260

INTRODUCTION

La présence de matière organique biodégradable dans l'eau potable favorise la croissance indésirable de bactéries pendant le transport de l'eau dans le réseau de distribution. L'utilisation d'un désinfectant comme le chlore permet de limiter partiellement cette croissance. La chloration conduit cependant à la formation de sous-produits de désinfection potentiellement nuisibles pour la santé ainsi qu'à des problèmes de goûts et d'odeurs. De plus, les bactéries fixées, principale source de recroissance bactérienne en réseau de distribution, sont moins sensibles à l'action du chlore que ne le sont les bactéries libres. Pour toutes ces raisons, l'enlèvement de la matière organique biodégradable à l'usine est l'un des objectifs des traiteurs d'eau. La filtration sur charbon actif biologique (CAB) est l'un des procédés utilisés pour diminuer la teneur en matière organique biodégradable d'une eau.

Les trois thèmes abordés dans cette thèse sont reliés au contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution. Le premier thème a pour objet l'étude de la filtration biologique et plus précisément son effet sur la stabilité microbiologique de l'eau. Le deuxième thème regroupe les travaux reliés aux acides aminés, l'une des composantes de la matière organique biodégradable. Ces travaux portent sur l'efficacité des procédés de traitement dans l'enlèvement des acides aminés ainsi que sur l'influence de ces composés sur la stabilité microbiologique de l'eau. Une attention particulière a été

accordée à la filtration biologique puisque l'objectif principal de cette dernière est justement d'enlever les substrats biodégradables. Le troisième thème de cette thèse est la résistance à la désinfection de la biomasse fixée. Cette caractéristique de la biomasse fixée amplifie les problèmes de recroissance bactérienne causée par la présence de substrats dans l'eau traitée. Le rôle joué par le matériau de support et les dépôts de corrosion a été abordé de même que l'influence de la structure du biofilm.

Cette thèse est divisée en cinq chapitres. Le chapitre 1 présente une évaluation de la stabilité microbiologique d'une eau filtrée sur CAB. Les objectifs de ce chapitre sont :

1) montrer l'effet de la filtration biologique, et de l'enlèvement de matière organique biodégradable sur le potentiel de recroissance de l'eau en réseau de distribution,

2) montrer les effets de la filtration biologique et de la corrosion sur l'efficacité de la désinfection par le chlore,

3) confirmer l'utilité des réacteurs annulaires pour l'étude de l'impact d'une modification de traitement sur le potentiel de recroissance de la biomasse en réseau de distribution.

Afin d'atteindre ces objectifs, la croissance de biomasse supportée par une eau filtrée sur CAB a été comparée à celle d'une eau n'ayant pas subie cette étape de filtration. Cela a été réalisé avec l'aide d'un montage de 8 réacteurs annulaires de fonte et de 3 réacteurs annulaires de polycarbonate. Une chloration de l'affluent des réacteurs a permis de montrer l'effet des matériaux de support et de l'eau d'alimentation sur la stabilité de l'eau produite en présence d'oxydant. Une comparaison des résultats obtenus en réacteurs annulaires avec ceux obtenus en réseaux réels a aussi été réalisée.

La composition exacte de la matière organique biodégradable reste mal définie bien que plusieurs travaux récents aient eu pour objectif d'en préciser la composition. Les acides aminés sont l'une des classes de composés pouvant participer au carbone organique biodégradable. Le chapitre 2 présente des suivis de la teneur en acides aminés totaux (libres et combinés à diverses molécules) le long de deux filières de traitement d'eau potable et de leurs réseaux de distribution. Les objectifs du travail présenté dans le chapitre 2 sont de :

1) montrer l'efficacité de différents procédés de traitement, notamment la filtration sur CAB dans l'enlèvement des acides aminés totaux,

2) évaluer la stabilité des acides aminés totaux (AAT) dans un réseau de distribution en fonction du temps de séjour de l'eau et comparer les résultats obtenus avec une eau filtrée sur CAB et avec une eau traitée conventionnellement.

Le chapitre 3 présente une étude détaillée de l'enlèvement des AAT dans un filtre CAB fonctionnant en mode biologique. Des enlèvements de CODB et de demandes en chlore de l'eau ont été comparés. Les objectifs du chapitre 3 sont de :

1) quantifier l'enlèvement des acides aminés totaux par une filtration sur CAB fonctionnant en mode biologique afin d'estimer leur biodégradabilité,

2) estimer la fraction de la demande en chlore de l'eau exercée par les acides aminés totaux et montrer l'importance de l'enlèvement des acides aminés totaux dans l'enlèvement de la demande en chlore par une filtration sur CAB.

Le chapitre 4 présente les résultats d'essais en réacteurs annulaires de polycarbonate dans le but de montrer l'influence de la présence de faibles quantités d'acides aminés libres sur la croissance de la biomasse. L'applicabilité d'un modèle de prédiction de l'évolution de la qualité de l'eau en réseau de distribution, le modèle SANCHO, à l'analyse des résultats obtenus en réacteurs annulaires est également discutée dans ce chapitre. Ce modèle peut être adapté à l'analyse de résultats obtenus en réacteurs

annulaires. La version modifiée du modèle SANCHO a reçu le nom de MERLIN. La répartition du CODB en trois classes de biodégradabilités distinctes ainsi que la possibilité d'obtenir de l'information sur le rendement de croissance associée à un substrat par une biomasse donnée rend le modèle MERLIN intéressant. Les résultats expérimentaux présentés dans ce chapitre, ainsi que ceux du chapitre 1 du chapitre 1 ont été utilisés afin d'évaluer les performances de ce modèle. Les objectifs du travail présenté dans le chapitre 4 sont les suivants:

1) *quantifier la biodégradabilité des acides aminés libres lorsque les conditions et les concentrations se rapprochent de celles existant en réseaux de distribution,*

2) *vérifier l'utilité d'un modèle de prédiction (version modifiée de SANCHO) de l'évolution de la qualité de l'eau en réseau de distribution, pour analyser des résultats obtenus avec des réacteurs annulaires.*

Finalement, le chapitre 5 présente une étude de l'impact de la chloration sur la demande en chlore et la composition d'un biofilm d'eau potable. Les biofilms analysés proviennent de réacteurs annulaires de polycarbonate colonisés avec de l'eau du robinet légèrement enrichie. L'évolution de la demande en chlore exercée par le biofilm pendant la chloration en réacteur annulaire est proposée comme technique d'évaluation simple de la pénétration du chlore dans un biofilm. De même, la signification de l'évolution de la

teneur en AAT d'un biofilm pendant une chloration est discutée. Les théories concernant l'influence de la structure du biofilm dans la relative résistance à la désinfection affichée par la biomasse fixée sont analysées à la lumière des résultats obtenus. Les objectifs du travail présenté dans ce chapitre sont les suivants :

1) *évaluer la demande en chlore d'un biofilm et son évolution pendant une chloration semblable à celle réalisée en réseau de distribution,*

2) *mettre en évidence l'importance de la structure du biofilm dans la résistance à la désinfection par le chlore à l'aide de demande en chlore de biofilm.*

Bien que diverses avenues aient été explorées dans les différents chapitres de cette thèse, le fil conducteur de ces différentes approches demeure le contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution. Dans certaines sections au contenu plus appliqué, l'emphase est mise sur les traitements et leur conséquences, soit directement au niveau de la stabilité microbiologique de l'eau ou encore au niveau de l'enlèvement de composés participant au carbone organique biodégradable. Dans d'autres sections, une approche plus fondamentale est employée avec d'un côté, l'étude de l'impact d'une classe de composés sur la stabilité microbiologique de l'eau et de l'autre, l'étude des mécanismes de résistance à la désinfection dont bénéficie la biomasse fixée.

CHAPITRE 1 : EFFICACITÉ DE LA FILTRATION BIOLOGIQUE DANS LE CONTROLE DE LA RECROISSANCE BACTÉRIENE EN RÉSEAU DE DISTRIBUTION

1.1 Mise en contexte

Ce chapitre présente les résultats d'une étude en réacteurs annulaires réalisée en 1994 à l'usine de Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada). Ces résultats ont été obtenus lors de travaux réalisés dans le cadre d'un projet de recherche regroupant une étude réalisée dans les réseaux de distribution de Ville de Laval ainsi que deux études pilotes réalisées à l'usine Ste-Rose. L'ensemble de ces résultats ont été consignés dans un manuel AWWARF présenté à l'annexe 1. Une étude de confirmation des résultats obtenus avec les réacteurs annulaires de fonte et de polycarbonate a été réalisée par Serkedjieva (1996) dans le cadre d'un projet de maîtrise.

1.2 Introduction

1.2.1 Importance du contrôle de la croissance bactérienne dans les réseaux de distribution d'eau potable

Les réseaux de distribution d'eau potable peuvent être considérés comme de véritables bioréacteurs car, bien que la teneur en matière organique biodégradable (MOB) y soit relativement faible, on y retrouve tous les éléments essentiels au développement d'une

biomasse active. La paroi interne des conduites est rapidement colonisée par les bactéries survivant aux différents traitements de potabilisation de l'eau (Donlan *et al.*, 1994 ; Wolfaardt et Cloete, 1992). Ces bactéries, une fois fixées, se multiplient et éventuellement se détachent sous l'action des forces de cisaillement et aussi du manque d'espace. La croissance et le relargage des bactéries fixées sont alors considérés comme les principaux responsables de la détérioration de la qualité microbiologique de l'eau (LeChevallier *et al.*, 1987, 1991 ; Servais *et al.*, 1992b).

De plus, la biomasse fixée permet de supporter la croissance de divers organismes supérieurs tels les annélides, les protozoaires et les métazoaires (Lévy *et al.*, 1986). L'accumulation de ces diverses espèces peut causer des problèmes de goûts et d'odeurs, une augmentation de la turbidité, et une corrosion accrue d'origine microbienne (LeChevallier *et al.* 1993). Aussi, le décrochage de bactéries coliformes est l'un des facteurs pouvant mener au dépassement des normes menant à des avis de bouillir (Camper *et al.*, 1995a ; LeChevallier *et al.*, 1987, 1996). Selon ces auteurs, les bactéries coliformes peuvent provenir d'un biofilm d'eau potable. Leur présence n'est donc pas nécessairement reliée à une contamination, ce qui complique l'interprétation des résultats de bactéries coliformes totaux. Le souci d'améliorer la qualité microbiologique de l'eau potable devrait être poussé au-delà du simple respect des normes de bactéries coliformes. En effet, Payment *et al.* (1993) suggèrent que la consommation d'eau du robinet peut

augmenter le risque de maladie gastro-intestinale de 30%, même si cette eau satisfait à toutes les normes de potabilité en vigueur.

Le respect des normes de coliformes, et d'une manière plus générale l'amélioration de la qualité microbiologique de l'eau consommée, passe bien entendu par une amélioration des traitements à l'usine (Bablon *et al.*, 1991 ; LeChevallier *et al.*, 1996) et, à plus long terme, par une amélioration de la qualité de l'eau brute. Mais l'amélioration de la qualité microbiologique de l'eau consommée passe aussi par le contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution ainsi que dans les branchements et la plomberie domestique (Prévost *et al.*, 1997).

La stratégie la plus simple pour contrôler la croissance bactérienne en réseau de distribution consiste à maintenir une concentration résiduelle de désinfectant dans tout le réseau. Cependant, l'utilisation d'un désinfectant rémanent, le plus populaire étant le chlore, amène deux sujets d'inquiétudes soit : 1) la difficulté de maintenir une concentration résiduelle de désinfectant en évitant la création excessive de sous-produits de désinfection ; 2) la relative inefficacité du chlore pour la désinfection de la biomasse fixée. C'est pourquoi une approche plus globale au problème de la recroissance permet souvent de distribuer une eau de meilleure qualité. Cette approche globale inclue : le maintien d'une concentration résiduelle minimale de désinfectant, le contrôle de la

corrosion interne ainsi que l'enlèvement des nutriments qui peuvent servir de substrats pour la biomasse.

1.2.2 Limites de la chloration de l'eau: aspects chimiques

Il est difficile de maintenir un résiduel de chlore en réseau de distribution car celui-ci contient plusieurs sources de demandes en chlore. En plus de la demande en chlore exercée par l'eau, il existe une demande en chlore associée aux matériaux des conduites, aux dépôts (corrosion et autres) et au biofilm (Baribeau, 1995 ; Kiéné *et al.*, 1996 ; LeChevallier *et al.*, 1993).

L'importance de la demande en chlore associée à l'eau traitée dépend principalement de la température et du COT de l'eau (Desjardins *et al.*, 1997 ; Kiéné *et al.*, 1996 ; Jadas-Hécart, 1989). Le type de matériau des conduites influence la demande en chlore principalement sur la base de la vitesse des phénomènes de corrosion (Camper *et al.*, 1993 ; Kiéné *et al.*, 1994, 1996 ; LeChevallier *et al.*, 1990, 1993). Pour juger de l'importance relative de ces sources de demandes en chlore, il faut aussi tenir compte du diamètre des conduites. Par exemple, Kiéné *et al.*, 1996 ont montré que pour une conduite de 250 mm de diamètre, la demande en chlore totale exercée par le biofilm, telle que défini par une réaction d'ordre 1 par rapport au chlore, est très faible ($k = 3*10^{-4}$ min^{-1}), la demande exercée par l'eau est faible ($k = 4,72*10^{-4}$ min^{-1}), tandis que les demandes exercées par les conduites de fonte grises ($k = 2,73*10^{-3}$ min^{-1}) et par les

dépôts de corrosion et de $CaCO_3$ (k= $1,12*10^{-3}$) sont plus importantes. Selon ces auteurs, pour que la demande en chlore exercée par un biofilm d'eau potable devienne significatif, il faut que le diamètre des conduites soient inférieures à 50 mm.

Baribeau (1995), suite à des comparaisons de consommation de chlore libre pour de l'eau incubée dans différentes conditions (sections de réseaux de ciment, de fonte grise et en laboratoire), évalue que la demande en chlore associée au biofilm est négligeable face aux autres sources de demandes en chlore en réseau, Cet auteur a calculé ces demandes en chlore en conditions d'écoulement. La demande en chlore exercée par un biofilm d'eau potable ($0,187*10^{-5}$ et $0,134*10^{-5}$ mg $Cl_2/l*m^2*h$ pour deux échantilllonnages) est négligeable comparativement à la demande en chlore exercée par des conduites de fonte grise recouvertes de dépôts de corrosion ($113*10^{-5}$ et $79*10^{-5}$ mg $Cl_2/l*m^2*h$ pour deux échantillonages).

Il est possible dans certain cas d'ajouter suffisamment de chlore pour satisfaire les diverses demandes en chlore d'un réseau de distribution en injectant de fortes doses de chlore à la sortie de l'usine ou en utilisant des postes de rechloration (Boccelli *et al.* 1997). Cependant, un ajout de chlore excessif dans une eau riche en composés organiques provoque la formation de sous-produits chlorés (Doré, 1989) qui peuvent avoir des conséquences organoleptiques et sanitaires. En pratique, cela vient limiter la dose de chlore applicable (Morris *et al.*, 1992 ; Robertson *et al.*, 1992).

1.2.3 Limites de la chloration de l'eau : aspects bactériologiques

La faible performance du chlore dans le contrôle du biofilm et plus spécifiquement des coliformes dans l'eau potable a été soulignée par plusieurs auteurs (Camper *et al.*, 1993, 1995a ; Characklis et Marshall, 1990 ; LeChevallier *et al.*, 1987, 1988; Mathieu *et al.*, 1995 ; Reilly et Kippin, 1983 ; Sibille *et al.*, 1995 ; Smith *et al.*, 1989). Il a même été montré à quelques reprises qu'une faible concentration de chlore peut stimuler la recroissance de bactéries coliformes dans un réseau de distribution pilote (Camper *et al.* 1993, 1995a, b).

La relative résistance à la désinfection de la biomasse fixée est certainement causée par l'action combinée de plusieurs facteurs. Elle peut impliquer la sélection d'organismes plus résistants au chlore (Hiraishi *et al.*, 1995 ; Pernistky *et al.*, 1995 ; Ridgway et Olson, 1982). Cette résistance peut être favorisée par la réaction rapide du chlore avec les matériaux des parois des conduites ou avec les sous-produits de corrosion (Camper *et al.*, 1986 ; LeChevalier *et al.* ; 1993 ; Tuovinen *et al.*, 1984). Le chlore n'étant alors plus disponible pour détruire les bactéries. Elle peut aussi être le résultat des adaptations physiologiques comme un taux de croissance lent ou encore par la production d'exopolymères neutralisant le chlore ou créant une barrière de diffusion (Berg *et al.*, 1982 ; Brown *et al.*, 1990 ; Cargill *et al.*, 1992 ; Chen *et al.*, 1993 ; Herson *et al.*, 1987 ; Kuchta *et al.*, 1985 ; LeChevallier *et al.*, 1988 ; Leyval *et al.*, 1984 ; Pyle *et al.*, 1994). Finalement, une résistance à la diffusion du désinfectant dans le biofilm a été mise en

évidence par plusieurs auteurs (Berman *et al.*, 1988 ; Brown *et al.*, 1995 ; DeBeer *et al.*, 1994 ; Huang *et al.*, 1995 ; Srinivasan *et al.*, 1995).

1.2.4 Croissance bactérienne et matière organique biodégradable

La biodégradabilité des différentes composantes de la matière organique de l'eau est variable et son évaluation dépend des méthodes de mesure utilisées (Volk *et al.*, 1996). Une généralisation de l'apport des différents constituants du carbone organique dissous (COD) au carbone organique dissous biodégradable (CODB) est difficile à réaliser en raison des variations induites par la source d'eau et les méthodes d'évaluation de la biodégradabilité.

Récemment, Volk et al. (1996) ont caractérisé le CODB d'une eau de surface (White Clay Creek, USA) par des mesures en bioréacteurs. Le CODB de l'eau étudiée est défini comme suit : 55% de substances humiques, 19 % de sucres liés aux substances humiques, 11% de sucres libres, 2 % d'acides aminés libres, 2% d'acides aminés liés aux substances humiques, et 11% de composés non caractérisés. D'autres auteurs, suggèrent que les acides aminés totaux (libres et combinés) forment une fraction plus importante du CODB pour différentes eaux traitées : 5 à 25% selon Dossier-Berne (1994), un maximum de 40% pour Hureïki *et al.* (1996), et 63% selon Agbekodo (1994) pour une eau nanofiltrée. Aussi, l'importance générale des substances humiques dans le CODB reste à confirmer puisque Agebekodo (1994) a montré que pour une eau filtré sur sable

de l'usine Méry-sur-Oise, 63% du CODB provient de fractions non-humiques (non retenues sur résines XAD-8 et XAD-4).

Limiter la croissance bactérienne en minimisant la quantité de matière organique biodégradable dissoute dans l'eau est une approche de choix. Servais *et al.* (1995a) ont montré que la concentration de CODB à la sortie de l'usine de traitement est le facteur principal gouvernant la croissance bactérienne dans plusieurs réseaux de distribution. En se basant sur des données expérimentales et en utilisant un modèle prédictif, ils ont montré qu'il est possible de tenir compte de l'impact d'une concentration résiduelle de chlore dans le réseau de distribution. Le chlore retarde la croissance des biomasses fixées et libres, et dans une moindre mesure, diminue la quantité totale de biomasse dans le réseau de distribution. Cependant, quand la teneur en substrats est élevée, ces auteurs ont montré que la chloration ne permet pas un contrôle efficace de la croissance de biomasse fixée. De plus, même si le résiduel de chlore parvient à limiter la recroissance dans le réseau de distribution, celle-ci aura tendance à se réaliser dans les entrées de services, là où les conditions de croissance sont particulièrement favorables (stagnation, température élevée, ratio surface/volume élevé) (Prévost *et al.*, 1997).

Quelques auteurs ont proposé des objectifs de traitement permettant de limiter les problèmes de recroissance bactérienne en réseau de distribution. Servais *et al.* (1992b et 1995a) proposent une valeur seuil de 0,15 mg C/l de CODB sous lequel il n'y a plus de

consommation observable de CODB, et donc une croissance minimale de biomasse. van der Kooij *et al.* (1989) proposent une valeur seuil de 10 µg C/l de carbone organique assimilable (COA) pour laquelle les dénombrements bactériens seront inférieurs à 100 CFU/ml à 22°C. Le COA est obtenu suite au suivi de la croissance de souches de bactéries pures et constitue une mesure indirecte de la teneur en MOB car il est exprimé en équivalent acétate (van der Kooij, 1990). LeChevallier *et al.* (1991), avec 50 µg/l d'AOC, et Volk et Joret (1994), avec 150 µg/l de CODB suggèrent aussi des valeurs seuil à ne pas dépasser afin d'éviter l'apparition de bactéries coliformes en réseau de distribution.

1.2.5 Enlèvement de la matière organique biodégradable par la filtration biologique

Plusieurs étapes de traitement : la coagulation - floculation, la filtration sur charbon actif biologique ou la filtration par membrane permettent un enlèvement de MOB. Bien qu'un enlèvement très efficace de la MOB puisse être réalisé par la nanofiltration, (Agbekodo, 1993 ; Sibille 1995), ce procédé de traitement demeure coûteux. De plus, son application dans les régions froides est problématique à cause de la plus grande viscosité associée à l'eau froide, entraînant une baisse importante des flux traversant les membranes.

La filtration sur charbon actif biologique a pour objectif principal l'enlèvement de la MOB. Elle peut être implantée en deuxième étage, c'est-à-dire après une étape

indépendante de filtration rapide sur sable ou sur sable-anthracite. Elle peut aussi être mise en oeuvre en premier étage, le charbon actif biologique est alors placée au-dessus du sable, ce qui permet une implantation plus facile et moins coûteuse dans le cas d'une usine existante (Niquette, 1996 ; Prévost *et al.*, 1993). Plusieurs auteurs ont montré que la filtration biologique permet l'enlèvement d'une fraction importante de la MOB (Bouillot *et al.*, 1992 ; Huck *et al.*, 1991 ; Jansens *et al.*, 1984; Prévost *et al.*, 1991, 1992 ; Servais *et al.*, 1991 a et b, 1992a ; van der Kooij *et al.*, 1982, 1989). La filtration biologique réduit la quantité de substrats disponibles dans le réseau. La croissance de biomasse dans les filtres biologiques qui résulte de cet enlèvement peut être contrôlée par les paramètres d'opération, notamment le protocole de lavage des filtres (Niquette, 1996).

1.3 Objectifs

L'objectif principal de cette étude est de mieux comprendre l'effet de la filtration biologique, et de l'enlèvement de matière organique biodégradable qui s'y produit, sur le potentiel de recroissance en réseau de distribution. Le deuxième objectif de cette étude est mettre en évidence l'impact du type d'eau et de la corrosion interne des matériau des conduites sur l'efficacité de la désinfection par le chlore. Des essais en réacteurs annulaires, effectués en conditions semi-contrôlées, permettent de mettre en évidence les différents facteurs qui influencent la croissance des microorganismes. L'effet de ces différents facteurs est plus difficile à discerner dans des réseaux industriels plus

complexes. L'avantage de l'étude pilote en réacteurs annulaires est de pouvoir maintenir des conditions d'opérations plus stables qu'en réseau de distribution d'eau potable. Le troisième objectif de l'étude est de confirmer l'utilité des réacteurs annulaires pour mesurer l'impact d'une modification de traitement sur le potentiel de recroissance en réseau.

1.4 Matériel et méthodes

1.4.1 Usine Ste-Rose

L'usine Ste-Rose, (Ville de Laval, Québec, Canada) est présentée à la figure 1.1. Cette usine puise son eau de la rivière des Mille-Îles qui coule depuis le lac des Deux Montagnes. Le tableau 1.1 montre les caractéristiques moyennes de l'eau brute de cette usine. D'une capacité nominale de 110 000 m^3/d, sa filière de traitement comprend une décantation dynamique (alun et silice activée), une filtration en premier étage sable-anthracite, une ozonation intermédiaire, et une filtration sur charbon actif biologique CAB) en deuxième étage. Le bioxyde de chlore est utilisé dans cette usine pour la désinfection finale. Les concentrations de bioxyde de chlore quittant l'usine varient entre 0,02 et 0,27 mg ClO_2/l.

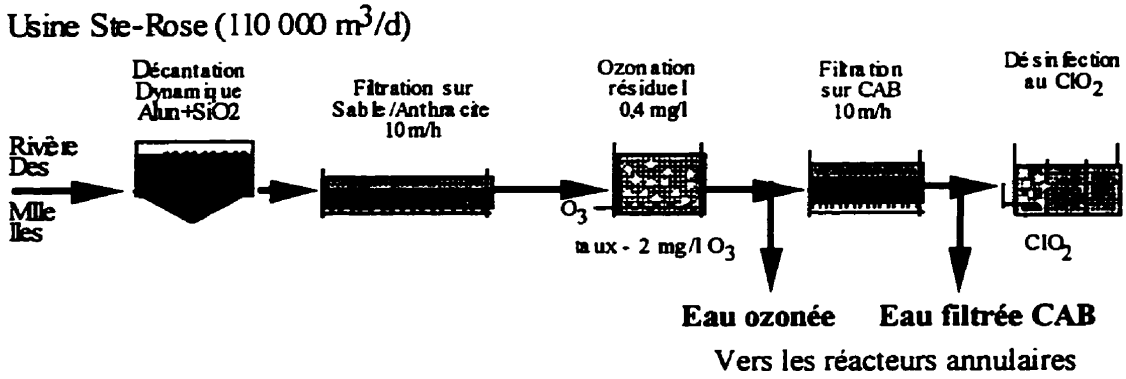


Figure 1.1 Filière de traitement de l'usine de production d'eau potable de Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada).

Tableau 1.1 Principales caractéristiques de l'eau brute de l'usine Ste-Rose.

Paramètres	Unités	Valeur maximale	Valeur moyenne	Valeur minimale
COT	mg/l C	8,4	6,7	5,8
Absorbance UV (254nm)	cm^{-1}	0,563	0,300	0,212
Turbidité	UTN	64	9,2	1,3
Conductivité	µmhos/cm	157	104	66
Couleur	UCV	300	70	10
Alcalinité totale	mg/l $CaCO_3$	50	34	23
Dureté totale	mg/l $CaCO_3$	60	42	33
Calcium	mg/l Ca	21	12	9
pH	unité pH	7,7	7,3	7
BHA (R2A)	ufc/100 ml	80000	4000	600
Coliformes totaux	ufc/100 ml	30000	7800	1100
Coliformes fécaux	ufc/100 ml	1700	6000	270
Streptocoques fécaux	ufc/100 ml	400	60	10

1.4.2 Description des réacteurs annulaires

Les réacteurs annulaires ont été commercialisés par Characklis et Roe (1984), (US patent 4,485,450, 27 nov. 1984), et par le Center for Biofilm Engineering du Montana State University. Ce réacteur permet un écoulement de type complètement mélangé (Davis, 1994). Il est composé d'un cylindre externe et d'un cylindre interne. Le cylindre externe supporte 96 coupons permettant l'échantillonnage du biofilm (48 coupons et 12 lamelles). Le cylindre interne est entraîné sur son axe par un moteur, ce qui permet d'assurer un parfait mélange et de simuler les conditions hydrauliques que doit subir un biofilm à la surface interne d'une conduite dans un réseau de distribution. Un réacteur annulaire est présenté en coupe à la figure 1.2 tandis que les principales caractéristiques des réacteurs de fonte et de polycarbonate sont présentées au tableau 1.2. Le réacteur annulaire offre une grande flexibilité de conditions d'utilisation et permet l'étude du biofilm dans des conditions plus stables et plus contrôlées que celles retrouvées dans les réseaux de distribution (Camper *et al.*, 1996).

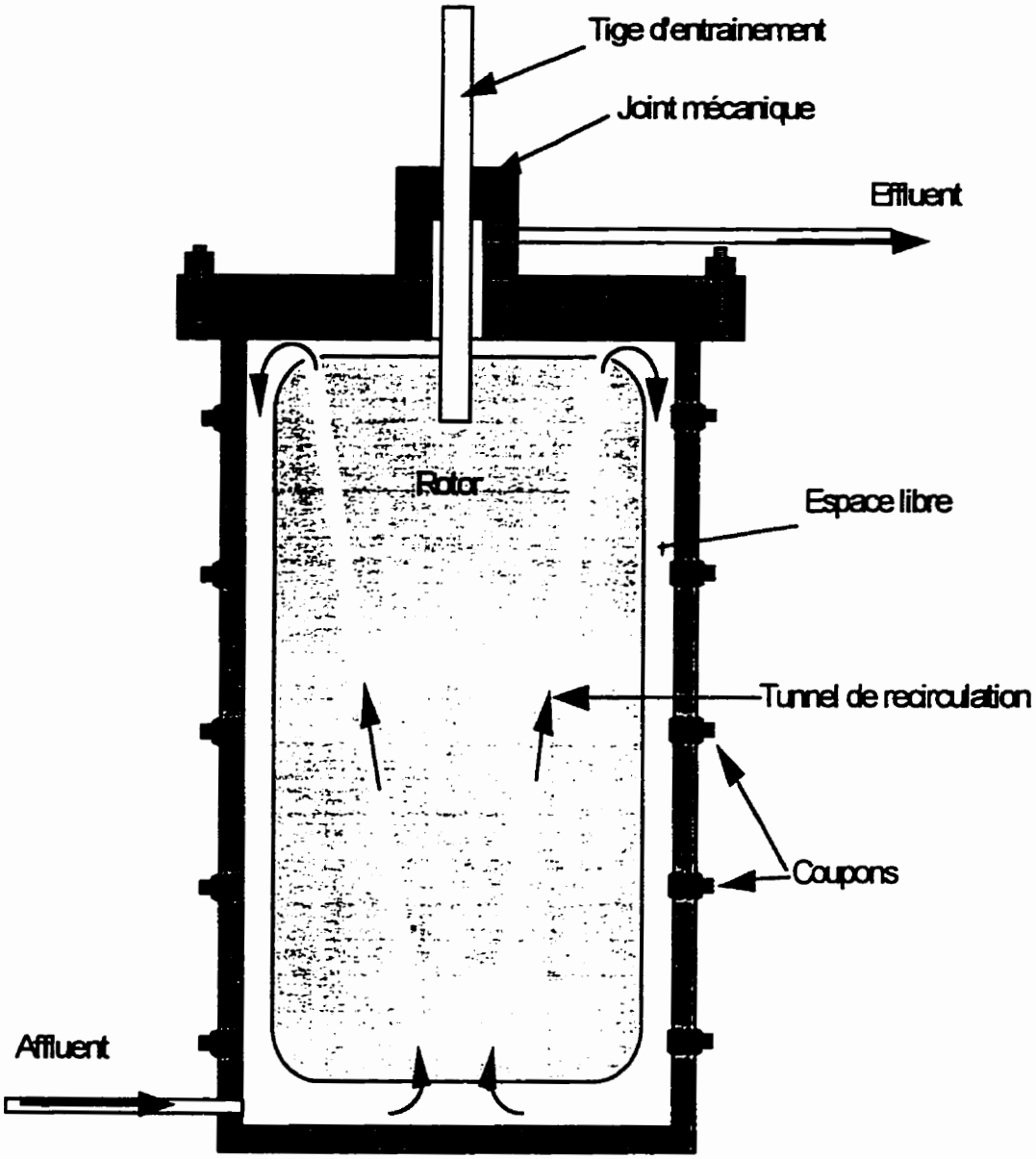


Figure 1.2 Coupe transversale d'un réacteur annulaire (adapté de Serkedjieva, 1996).

COMPOSANTE	POLYCARBONATE	FONTE
ANNEAU EXTÉRIEUR		
Matériel	Polycarbonate	Fonte ductile
Diamètre intérieur, mm	117	155
Hauteur, mm	202	214
Volume, cm^3	2172	4441
épaisseur de paroi, mm	6	9,3
ROTOR		
Matériel	Polycarbonate	PVC
Hauteur, mm	188	224
Diamètre, mm	100	130
Cavité sous rotor, ml	1	7
Tunnels nombre	4	4
diamètre, mm	102	103
longueur, mm	189	225
volume, cm^3	62	75
Volume sans exclure les tunnels, cm^3	1476	2966
Volume total, cm^3	1415	2892
ESPACE LIBRE ENTRE ROTOR ET ANNEAU, mm	7.5	11,75
VOLUME UTILE		
Vol. utile interne, ml	757	1549
Surface utile en fonte, cm^2	0	1167
Surface utile interne du R.A., cm^2	1947	2955
Surface utile totale, cm^2	2105	3123
Mesure volumétrique cm^3	759	1561
COUPONS		
Diamètre utile, mm	8,45 (10,53)	15.6 (12,63)
Surface utile, cm^2	0,56 (0,87)	1.91 (1,24)
Nombre	48	90
LAMELLES		
Hauteur, mm	201	-
Largeur, mm	17,9	-
Épaisseur, mm	0,77	-
Nombre	12	-
Surface utile, cm^2	34,17	-

Tableau 1.2 Dimensions et composantes des réacteurs annulaires de fonte et de polycarbonate.

1.4.3 Montage expérimental

1.4.3.1 Description

Le montage expérimental est présenté à la figure 1.3. Il a été installé à l'usine Ste- Rose (Ville de Laval, Québec, Canada). La figure 1.3 montre que les réacteurs sont alimentés en série de deux, ce qui permet l'étude de deux temps de séjours différents (1 heure et 15 heures, temps cumulatif). Les 8 réacteurs de fonte sont répartis dans deux groupes de quatre réacteurs, l'un alimenté avec de l'eau ozonée (réacteurs O_3) et l'autre avec de l'eau provenant de l'effluent de deux filtres CAB de l'usine (réacteurs CAB). De cette manière, deux types d'eau sont étudiés en parallèle. De plus, pour chaque type d'eau d'alimentation, une des deux séries de réacteurs reçoit de l'eau chlorée afin d'évaluer l'effet de la chloration. Finalement, trois réacteurs en polycarbonate sont alimentés avec de l'eau ozonée. Les temps de séjour de l'eau de deux de ces réacteurs sont réglés à 1 heure (réacteurs 1h). Le troisième réacteur de polycarbonate est opéré en série avec un temps de séjour cumulatif de 15 heures (réacteur 15h). Les réacteurs en polycarbonate permettent d'étudier l'effet du matériau (et de la corrosion) sur l'ensemble des résultats obtenus. Lors du lavage d'un des filtres CAB, l'alimentation en eau filtrée sur CAB provient de l'autre filtre afin de ne pas introduire d'eau de lavage dans les réacteurs.

Tous les débits sont assurés avec des pompes Masterflex (modèle 7553-80), avec têtes standards utilisant des tubes de pompage Pharmed assurant une grande résistance à l'usure. Les diamètres des tubes de pompages utilisés pour les réacteurs 1h sont de type

N16 (3,1 mm de diamètre interne : 29 ml/min pour les réacteurs de fonte et 12 ml/min pour les réacteurs de polycarbonate), tandis que ceux utilisés pour les réacteurs 15h sont de type N14 (diamètre interne de 1,6 mm : 2,1 ml/min pour les réacteurs en fonte et 0,8 ml/min pour le réacteur en polycarbonate). Les raccordements sont réalisés avec des tubes opaques Viton N14, de diamètre interne de 1,6 mm.

La chloration de l'eau d'alimentation des réacteurs est réalisée à l'aide d'une solution d'hypochlorite de sodium 100 mg/l. Une solution relativement concentrée a été choisie car elle est stable pendant plus de 5 jours à la température de la pièce et qu'elle minimise la dilution de l'eau d'alimentation. Cette solution est préparée tous les 4 jours à partir d'eau de Javel (La Parisienne 4% vol/vol) dans de l'eau filtrée CAB. La chloration de l'eau d'alimentation est réalisée dans un réservoir de mélange en acier inoxydable de 10 litres, avec un débit d'eau (en excès) de 5 l/min. Le fort débit de mélange facilite l'ajustement des taux de chloration. Afin de minimiser l'effet du temps de contact dans le réservoir de mélange du chlore sur la qualité de l'eau, des réservoirs de contact identiques mais non chlorés ont été installés en amont des séries de réacteurs non chlorés. Tout l'équipement de pompage provient de la compagnie Cole-Parmer, (Chicago, USA).

La quantité de chlore ajoutée dans les réacteurs est ajustée de façon à tenir compte de la demande en chlore plus forte associée à l'eau ozonée. Les eaux d'alimentation sont donc

chlorées de façon à obtenir un résiduel libre de 1,5 mg Cl_2/l à la sortie du réservoir de contact pour l'eau ozonée et de 1,0 mg Cl_2/l pour l'eau filtrée CAB. De cette façon, la quantité de chlore disponible pour réagir avec la corrosion et le biofilm est sensiblement la même dans les réacteurs alimentés avec les deux types d'eau. La dose de chlore résiduel libre moyenne mesurée à l'affluent des réacteurs CAB est de 1,52 ± 0,04 mg Cl_2/l tandis que celle pour l'affluent des réacteurs CAB-1h-Cl_2 est de 0,99 ± 0,04 mg Cl_2/l.

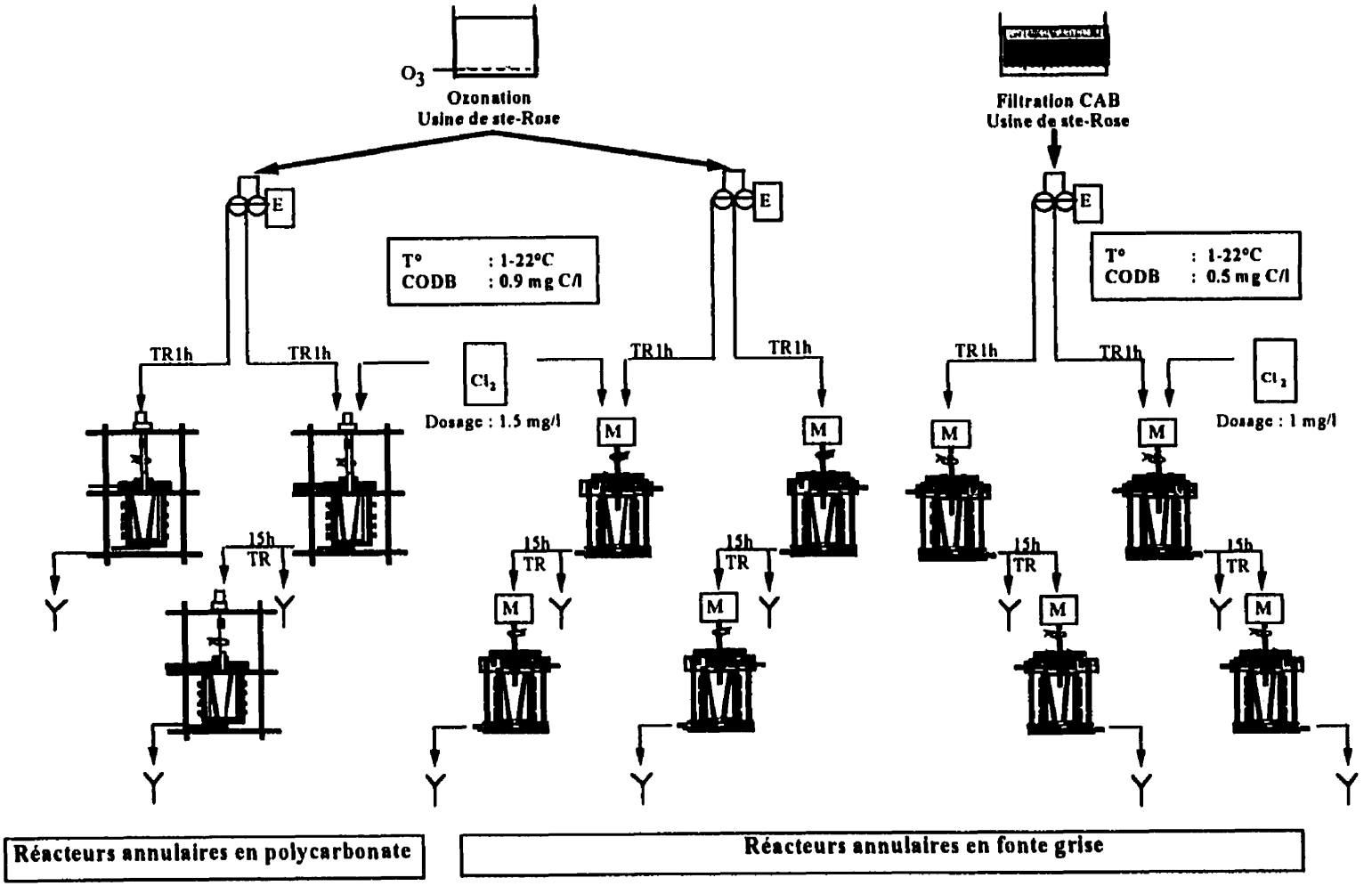


Figure 1.3 Montage pilote de réacteurs annulaires utilisé à l'usine de Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada).

1.4.3.2 Pré-traitement des réacteurs de polycarbonate

Puisque le polycarbonate nu réagit avec le chlore, les réacteurs de polycarbonate ont d'abord été pré-traités pour limiter la demande en chlore associée aux réacteurs. Le traitement choisi consiste à laisser reposer dans les réacteurs pendant 2 heures une solution d'acide nitrique 10% vol/vol suivi d'une solution concentrée de chlore (100 mg Cl_2/l) pendant 3 jours. Ce traitement a permis de réduire grandement la demande en chlore à long terme du polycarbonate. La demande en chlore des réacteurs traités est de 3,1 mg $Cl_2/m^2 \cdot d$. En considérant l'aire interne totale d'un réacteur de polycarbonate (0,195 m^2) et son volume (0,747 l), cela représente une consommation de 0,034 mg Cl_2/h par réacteur. La consommation de chlore réelle est encore plus faible puisque la concentration de chlore appliquée à l'affluent des réacteurs (1,5 mg Cl_2/l) est plus faible que celle utilisée pour la mesure de la demande en chlore associée aux réacteurs (5,0 mg Cl_2/l).

1.4.3.3 Conditions d'alimentation

L'eau ozonée possède une teneur moyenne en CODB de 0,86 ± 0,5 mg C/l tandis que l'eau filtrée CAB en contient beaucoup moins soit 0,49 ± 0,5 mg C/l. Le tableau 1.3 présente les variations des caractéristiques de l'eau ozonée et de l'eau filtrée alimentant les réacteurs.

Le pH de l'eau d'alimentation des réacteurs n'est pas ajusté. Les valeurs de pH de l'eau d'alimentation des réacteurs oscillent entre 6,5 et 7,0. Cette eau est plus agressive que l'eau refoulée en réseau qui a un pH ajusté à environ 8 par l'addition de chaux.

Le montage a été assemblé en novembre 1993 et les réacteurs de fonte mis en route le 13 janvier 1994. La chloration des réacteurs de fonte a débuté le 19 mai 1994 après 127 jours d'ensemencement. Les réacteurs de polycarbonate ont été mis en route le 20 février 1994. La chloration des réacteurs en polycarbonate a débuté le 14 juillet 1994 après 116 jours d'ensemencement. Les premiers échantillonnages avaient pour but de suivre l'ensemencement des différents réacteurs avant de débuter la chloration. Lors des échantillonnages ayant été effectués au printemps, des variations importantes de la qualité de l'eau ont été observées.

Les fortes variations saisonnières de température observées à l'affluent des réacteurs ont été nettement atténuées à l'intérieur des réacteurs (tableau 1.3 et figure 1.4). La température de l'eau d'alimentation des réacteurs 1 h a augmenté de 1 à 22 ^{o}C. À l'effluent des réacteurs 1h, la température de l'eau a variée de 9 à 23 ^{o}C alors qu'à l'effluent des réacteurs 15h, elle a variée de 11 à 23 ^{o}C. Les valeurs de COD et de CODB ont aussi varié au cours de l'étude mais les valeurs de COD et de CODB pour l'eau ozonée ont été constamment supérieures à celles obtenues pour l'eau filtrée CAB.

Tableau 1.3 Principales caractéristiques de l'eau alimentant les différents réacteurs.

	Eau ozonée		Eau filtrée CAB	
	Moyenne	*Min - Max*	*Moyenne*	*Min - Max*
Temperature (°C)	9,6	1,5 - 22,5	9,7	1,5 - 22,6
pH	6,64	6,56 - 6,75	6,53	6,47 - 6,60
COD (mg C/l)	3,36	2,85 - 3,78	2,90	2,48 - 3,41
CODB (mg C/l)	0,86	0,23 - 1,84	0,49	0,04 - 1,56
CDT AO ($x10^5$)	6,45	3,80 - 9,22	5,56	2,88 - 8,19

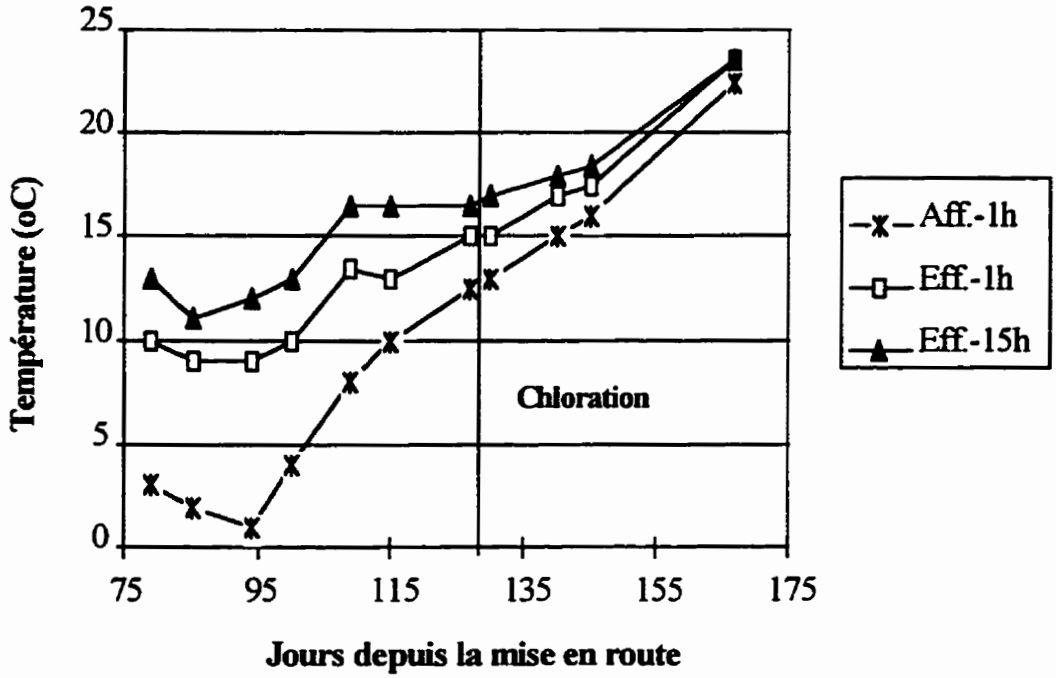


Figure 1.4 Évolution de la température de l'eau des différents réacteurs.

1.4.4 Echantillonnage des réacteurs

Lors de l'échantillonnage de chaque réacteur, les échantillons liquides sont prélevés avant toute manipulation. Ensuite, l'eau à l'intérieur du réacteur est délicatement recueillie par le bas du réacteur et les coupons sont retirés pour être rapidement remplacés par de nouveaux coupons. L'eau que contenait le réacteur est repompée sans délai dans le réacteur afin d'éviter l'assèchement du biofilm. Chaque coupon échantillonné est aussitôt installé dans un incubateur (figure 1.5) qui a été préalablement désinfecté au four à 110^{0}C pendant 30 minutes. Le coupon, installé dans son incubateur, est recouvert de 3 ml d'eau de l'effluent du réacteur (2 ml pour les incubateurs de coupons en polycarbonate). Cette eau a été stérilisée par un passage sur filtre seringue Millex stérile d'une porosité de 0,22 µm (Millipore, Bedford, MA, USA) afin de ne pas interférer avec les mesures de biomasse fixée.

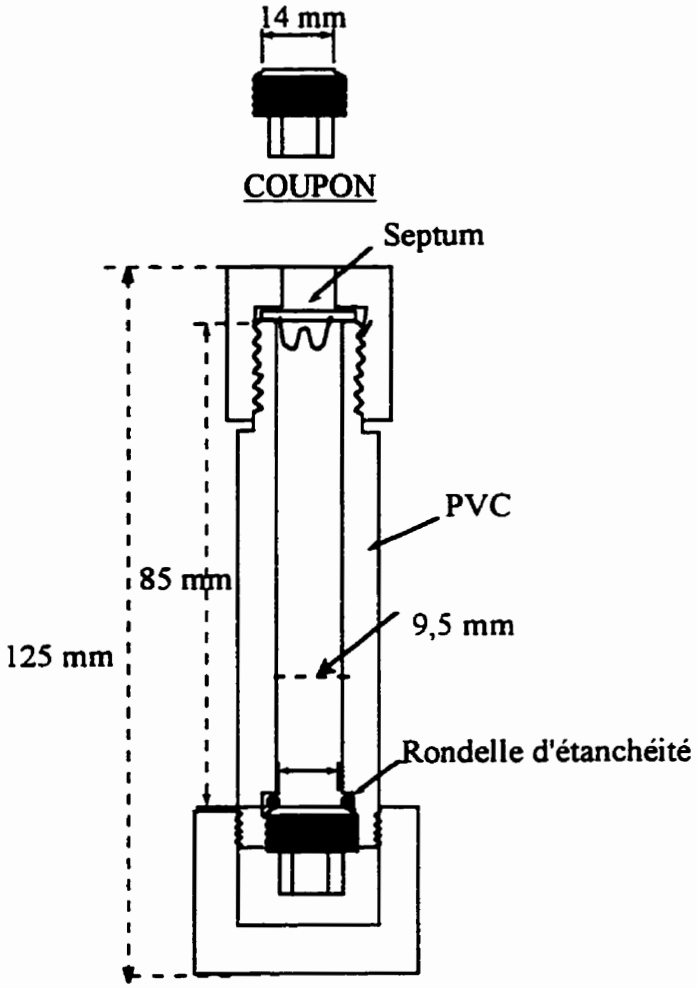


Figure 1.5 Incubateur permettant de transporter les coupons après l'échantillonnage.

1.4.5 Méthodes analytiques

1.4.5.1 Biomasse fixée évaluée à l'aide de la méthode de l'AEP et par des dénombrements de BHA.

La densité du biofilm dans les réacteurs annulaires a été évaluée par la méthode de l'activité exoprotéolytique potentielle (AEP) (Somville et Billen, 1983; Laurent et Servais, 1995) et par des énumérations de BHA sur milieu R2A (Difco Laboratory, Détroit, MI, USA) après grattage et homogénéisation du biofilm (APHA, 1992).

Chaque mesure d'AEP est réalisée sur trois coupons par réacteur. Lors de l'analyse, un volume de 75 µl d'une solution de L-leucyl-ß-Napthylamide (L-L-ßN) d'une concentration de 34 mM est ajouté à l'eau des incubateurs, ce qui assure une saturation en substrat (50 µl pour les coupons en polycarbonate car il n'y a que 2 ml de surnageant). Des échantillons de surnageant sont ensuite prélevés à toutes les 10 minutes afin d'en mesurer la fluorescence à une longueur d'onde d'excitation de 340 nm et une longueur d'onde d'émission de 410 nm. La fluorescence est causée par la formation de ß-naphtylamine suite à l'hydrolyse exoenzymatique du substrat de départ. La fluorescence est mesurée par un fluorimètre Waters (CA, USA) équipé d'une pompe modèle 600E, d'échantillonneur modèle 717+ et d'un détecteur modèle 470. À chaque échantillonnage, le fluorimètre a été calibré avec une série de standards de ßN de concentrations allant de 0,25 à 1 mM. L'augmentation de la fluorescence est linéaire en

fonction du temps. Cette relation linéaire est transformée en une activité exoprotéolitique exprimée comme une production molaire de ßN par unité de temps par cm^2 de biofilm. L'estimation de la densité de la biomasse fixée est alors convertie en g C/cm^2 à l'aide d'une relation expérimentale équivalant à 6,54 µgC/(nmole ßN/minute) (Laurent *et al.*, 1995). Cette relation a été obtenue en comparant les mesures d'AEP avec des comptes directs totaux par microscopie en épifluorescence (orangé acridine) pour une variété d'échantillons d'eau. Les résultats peuvent alors être exprimés en bactéries/cm^2 à l'aide de la relation expérimentale $20*10^{-15}$ g C/bactérie (Dubreuil, 1995).

Chaque dénombrement de BHA est réalisé sur trois coupons par réacteur. Les coupons sont transportés au laboratoire dans leurs incubateurs. Le biofilm porté par le coupon est détaché par grattage avec une lame stérilisée à la flamme et le volume complété à 10 ml avec une solution stérile de pyrophosphate 0,01% (masse/volume). La suspension obtenue est homogénéisée 30 secondes avec un homogénéiseur de tissus (Pro200, ProInstrument, USA). Finalement, une énumération standard sur milieu R2A est réalisée après 7 jours d'incubation à 20°C (APHA, 1992).

1.4.5.2 Bactéries libres : dénombrements par microscopie en épifluorescence

Les bactéries libres ont été mesurées par microscopie en épifluorescence après coloration avec l'acridine orangé tel que décrit Hobbie *et al.* (1977). Immédiatement après l'échantillonnage, des échantillons d'eau sont fixés avec un ajout de formaldéhyde à une

concentration finale de 2% (vol/vol). Après dilution, les suspensions sont filtrées sur un filtre de polycarbonate noir Nuclepore de 25 mm de diamètre d'une porosité de 0,22 µm (Fisher, Ottawa, Canada) et colorées 2 minutes avec 1 ml d'une solution d'acridine orangé 0,01% (masse/vol.). Deux lamelles sont montées pour chaque échantillon et dix champs microscopiques sont comptés pour chaque lamelle (Rompré, 1993).

1.4.6 Paramètres physico-chimiques

Les paramètres mesurés comprennent le carbone organique biodégradable (CODB), et le carbone organique dissous (COD), la température, le pH et la concentration résiduelle de chlore libre. Le CODB a été mesuré à l'aide d'un inoculum liquide mixte (l'eau brute de l'usine Ste-Rose) selon la méthode décrite par Servais *et al.* (1987, 1989). Les échantillons sont incubés à 20°C pendant 28 jours à l'obscurité. Le CODB correspond à la différence entre le COD de l'échantillon initial (avant l'incubation) et le COD de l'échantillon incubé. Les mesures de COD et de COT sont réalisées à l'aide d'un appareil analyseur de carbone Dohrmann (Dohrmann Envirotech, Santa-Clara, CA, USA) qui utilise l'oxydation au persulfate/UV. Finalement, la concentration résiduelle de chlore libre est mesurée par la méthode colorimétrique à la DPD (APHA, 1992).

1.5 Résultats et discussion

1.5.1 Réacteurs de fonte

1.5.1.1 Biomasse fixée évaluée à l'aide de la méthode de l'AEP

La figure 1.6 montre les résultats des mesures de la biomasse fixée effectuées par la méthode de l'AEP. Cette figure suggère que les réacteurs avaient atteint un équilibre après environ 120 jours d'ensemencement. Avant le début de la chloration, tous les réacteurs 15h, quelle que soit leur alimentation, ainsi que les réacteurs 1h alimentés avec de l'eau ozonée possèdent une quantité de biomasse fixée similaire (valeurs moyennes avant chloration: O_3-1h: 3,8 ± 0,9x10^7 bactéries/cm^2 ; CAB-15h: 5,2 ± 1,3x10^7 bactéries/cm^2; O_3-15h: 5,1 ● 1,2x10^7 bactéries/cm^2). La quantité de biomasse fixée est moindre dans les réacteurs 1h alimentés avec de l'eau CAB (CAB-1h: 1,6x10^7 ± 0,6x10^7 bactéries/cm^2). Cette observation est cohérente avec un enlèvement par la filtration biologique des substrats rapidement assimilables. D'ailleurs, la différence entre les densités de biomasse fixée s'estompe légèrement après 120 jours d'opération, alors que la température des réacteurs 1h atteint des valeurs supérieurs à 10 ^{0}C. L'augmentation de la température entraîne possiblement une augmentation de la cinétique d'hydrolyse des substrats disponibles, ce qui pourrait venir compenser l'enlèvement par la filtration biologique d'une fraction des substrats rapidement assimilables.

La biomasse fixée semble peu affectée par le maintien d'un résiduel de chlore dans l'affluent des réacteurs 1h et ce, même après 30 jours de chloration continue. La totalité

du chlore ajouté est consommé à l'intérieur des réacteurs 1h puisque aucun résiduel de chlore n'a été mesuré à l'effluent de ces derniers.

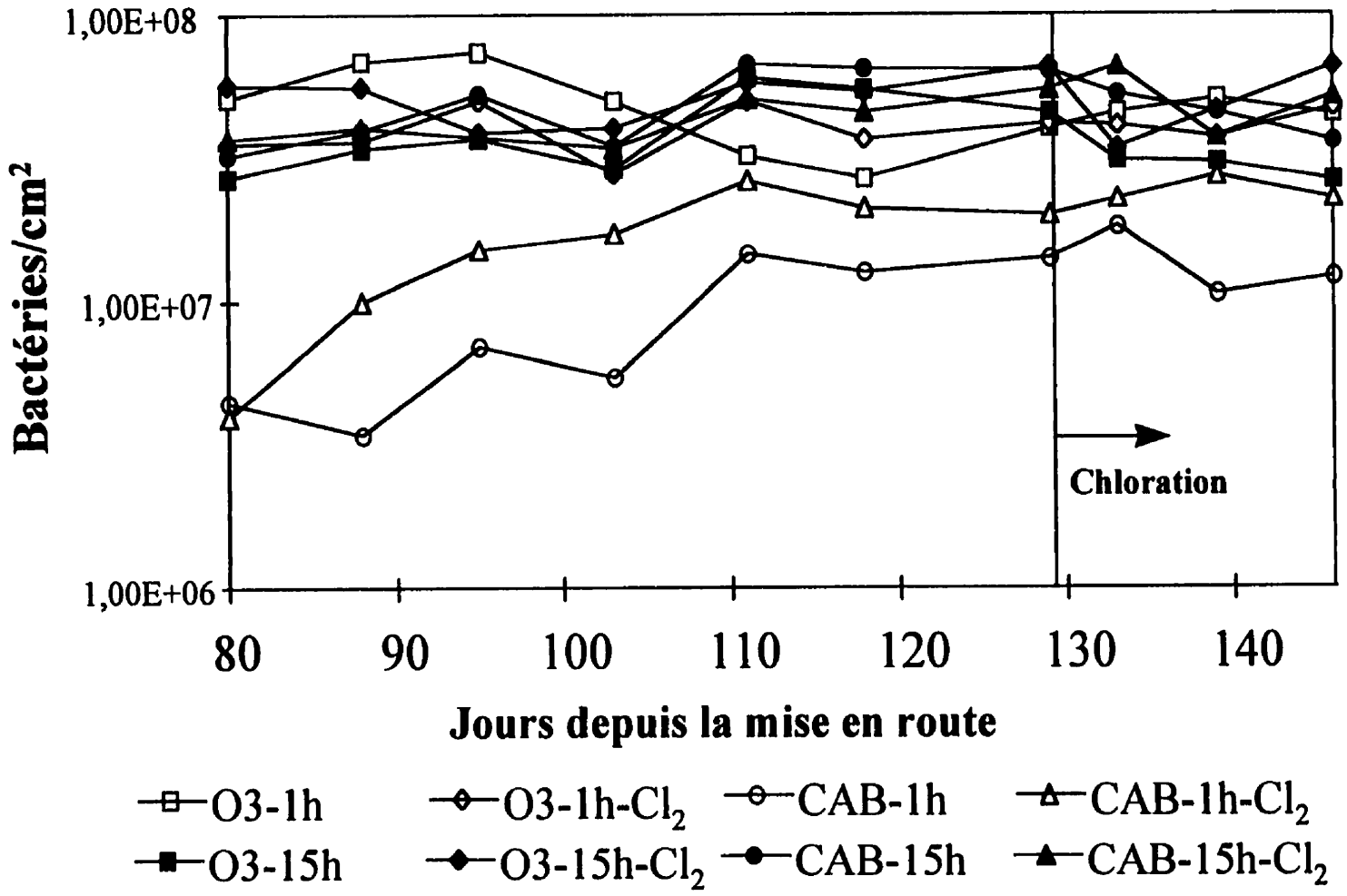


Figure 1.6 Évolution de la biomasse fixée dans les réacteurs annulaires mesurée par la méthode de l'AEP.

1.5.1.2 Biomasse fixée mesurée par les dénombrements de BHA

La figure 1.7 montre les résultats des mesures de la biomasse fixée mesurée par les dénombrements de BHA. Les densités de biomasse fixée mesurée sont généralement plus faibles dans les réacteurs 1h que dans les réacteurs 15h. De plus, la biomasse fixée dans les réacteurs CAB-1h s'avère légèrement moins importante que celle retrouvée dans les réacteurs O_3-1h alimentés avec de l'eau ozonée. (biomasse fixée moyenne : CAB-1h: 4,8 $\pm$ $3x10^5$ bactéries/cm^2; O_3-1h : 1,3 $\pm$ $0,6x10^6$ bactéries/cm^2). Le type d'eau n'a pas eu d'influence nette sur les densités de biomasse fixée dans les réacteurs 15h. (biomasse fixée moyenne : CAB-15h: 6,7 $\pm$ $2x10^7$ bactéries/cm^2; O_3-15h : 4,6 $\pm$ $2x10^7$ bactéries/cm^2).

Les dénombrements de BHA confirment que la biomasse fixée des réacteurs 1h n'a été que peu affectée par la chloration. Quant à la biomasse des réacteurs 15h, puisque tout le chlore a été consommé dans les réacteurs 1h, celle-ci n'a pas été affectée puisque elle n'a pas été en contact direct ou prolongé avec le désinfectant.

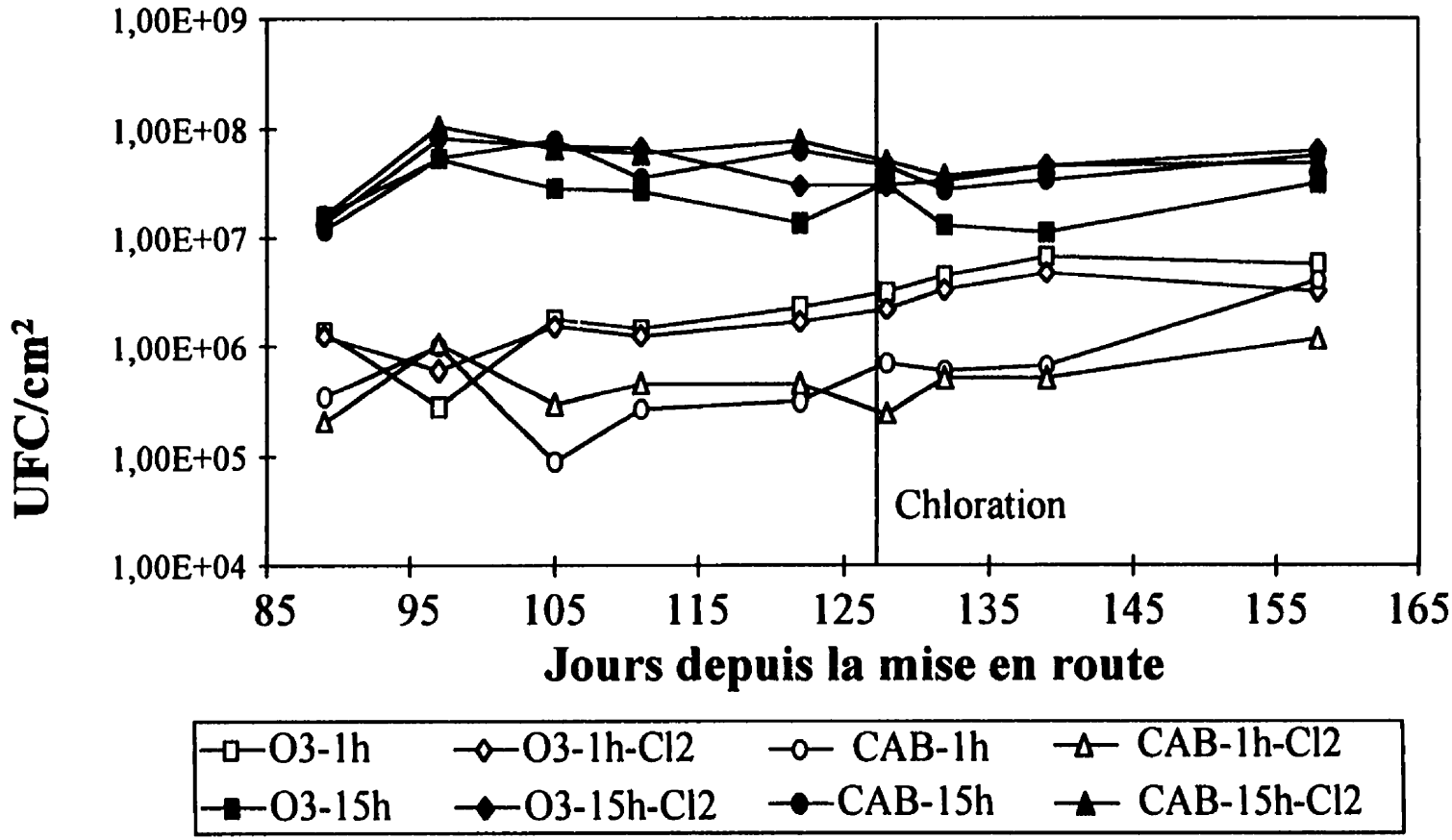


Figure 1.7 Évolution de la biomasse fixée dans les réacteurs annulaires par des dénombrements de BHA.

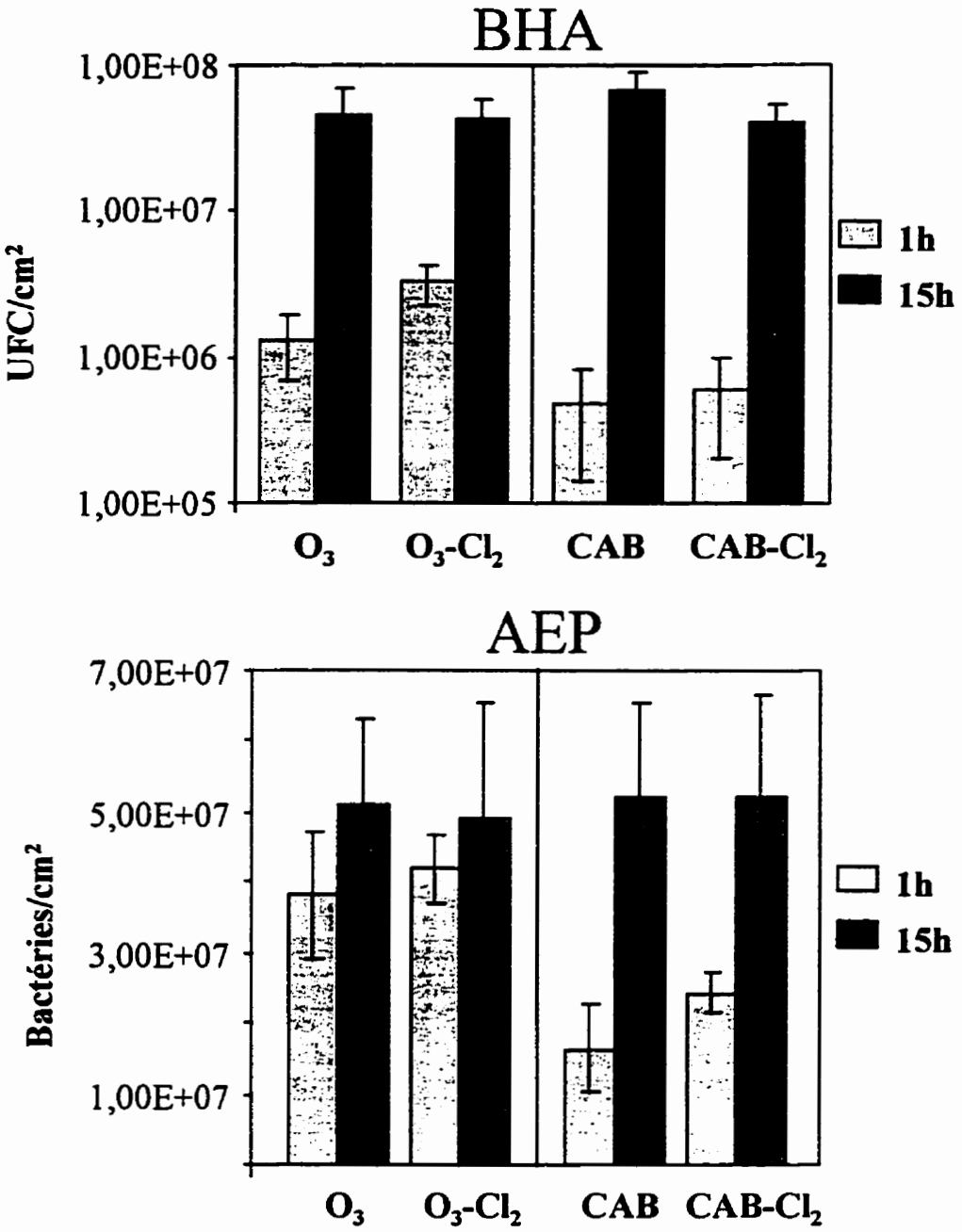


Figure 1.8 Valeurs moyennes de biomasse fixée dans les réacteurs annulaires mesurées par des dénombrements de BHA sur gélose et par la méthode de l'AEP.

1.5.1.3 Consommation de CODB

Des mesures de CODB des eaux d'alimentation et de sortie des réacteurs annulaires ont été réalisées sur une base hebdomadaire. Les enlèvements moyens de CODB dans les réacteurs sont présentés au tableau 1.4. On remarque que les réacteurs alimentés par de l'eau filtrée CAB enlèvent moins de CODB que les réacteurs alimentés avec de l'eau ozonée, et ce particulièrement dans le cas des réacteurs 1h. Le tableau 1.4 montre aussi que la quantité totale de CODB enlevée par la filtration biologique est équivalente à la quantité de CODB dans le premier réacteur alimenté avec de l'eau ozonée (O_3-1h). Il est intéressant de constater que l'enlèvement CODB total des réacteurs CAB additionné de l'enlèvement réalisé par la filtration biologique correspond à l'enlèvement total réalisé par les réacteurs O_3. Ceci suggère que si le CODB rapidement assimilable n'est pas enlevé à l'usine, il supportera la croissance de biomasse dès son entrée dans le réseau de distribution, du moins en absence de chlore libre.

Le tableau 1.5 présente les taux unitaires de consommation de CODB par la biomasse des différents réacteurs. Elles ont été calculées en utilisant les valeurs de biomasse fixée obtenues par la méthode de l'AEP et en tenant compte du temps de séjour de 1 heure dans les réacteurs 1h et de 14 heures dans les réacteurs 15h (15 heures étant le temps de séjour cumulatif). Ces résultats suggèrent que l'enlèvement de CODB par la filtration biologique affecte très peu la vitesse à laquelle le CODB résiduel est assimilé par la biomasse fixée.

Les taux unitaires d'enlèvement de CODB calculés pour les réacteurs 15h sont plus de dix fois inférieurs à ceux calculés pour les réacteurs 1h. Cela montre que les substrats les plus facilement assimilables sont consommés dans les réacteurs 1h, rendant beaucoup plus difficile l'assimilation des substrats restants par la biomasse des réacteurs 15h.

Tableau 1.4 Enlèvements moyens de CODB en absence de chlore par les réacteurs et par la filtration biologique de l'usine Ste-Rose.

Enlèvement du CODB (mg C/l)	**1h**	**15h**	**Total**
Réacteurs CAB	0,07 ± 0,31	0,18 ± 0,17	0,25 ± 0,48
Réacteurs O_3	0,33 ± 0,40	0,27 ± 0,17	0,60 ± 0,57
Filtres CAB usine	---	---	0,35 ● 0,27
Réacteurs CAB (total) + filtres CAB usine		---	0,60 ● 0,75

Tableau 1.5 Taux unitaires d'enlèvement moyen du CODB par la biomasse fixée des réacteurs en l'absence de chlore.

Taux unitaires d'enlèvement du CODB (µg C/(µg C de bactéries * h))	**Réacteurs 1h**	**Réacteurs 15h**
Réacteurs CAB	0,11	0,006
Réacteurs O_3	0,15	0,008

1.5.1.4 Biomasse libre mesurée par microscopie en épifluorescence

Les figures 1.9 et 1.10 présentent l'évolution des résultats des comptes totaux de bactéries libres et la figure 1.11 une comparaison des valeurs moyennes obtenues.

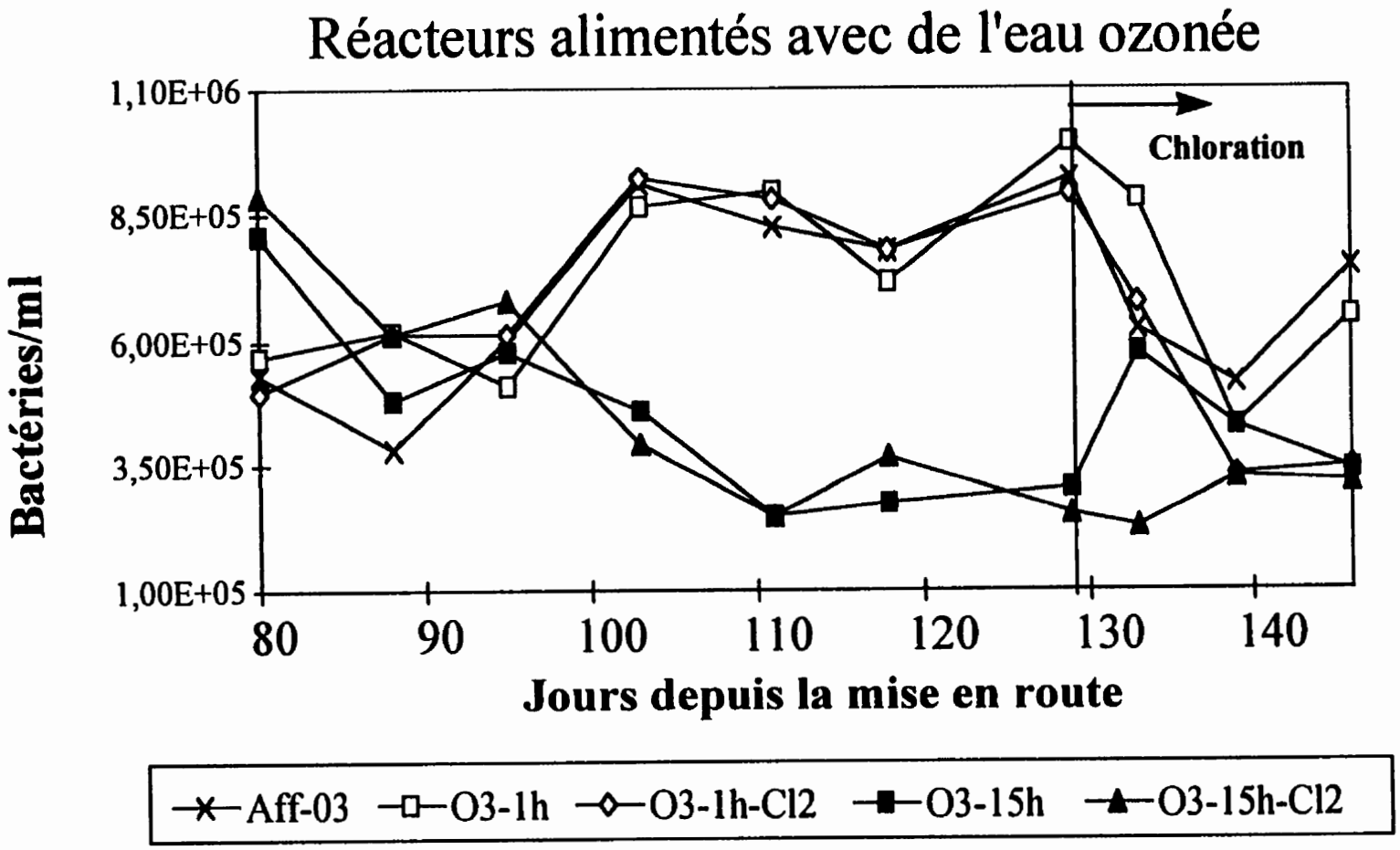


Figure 1.9 Évolution des comptes totaux de bactéries libres pour les réacteurs alimentés avec de l'eau ozonée.

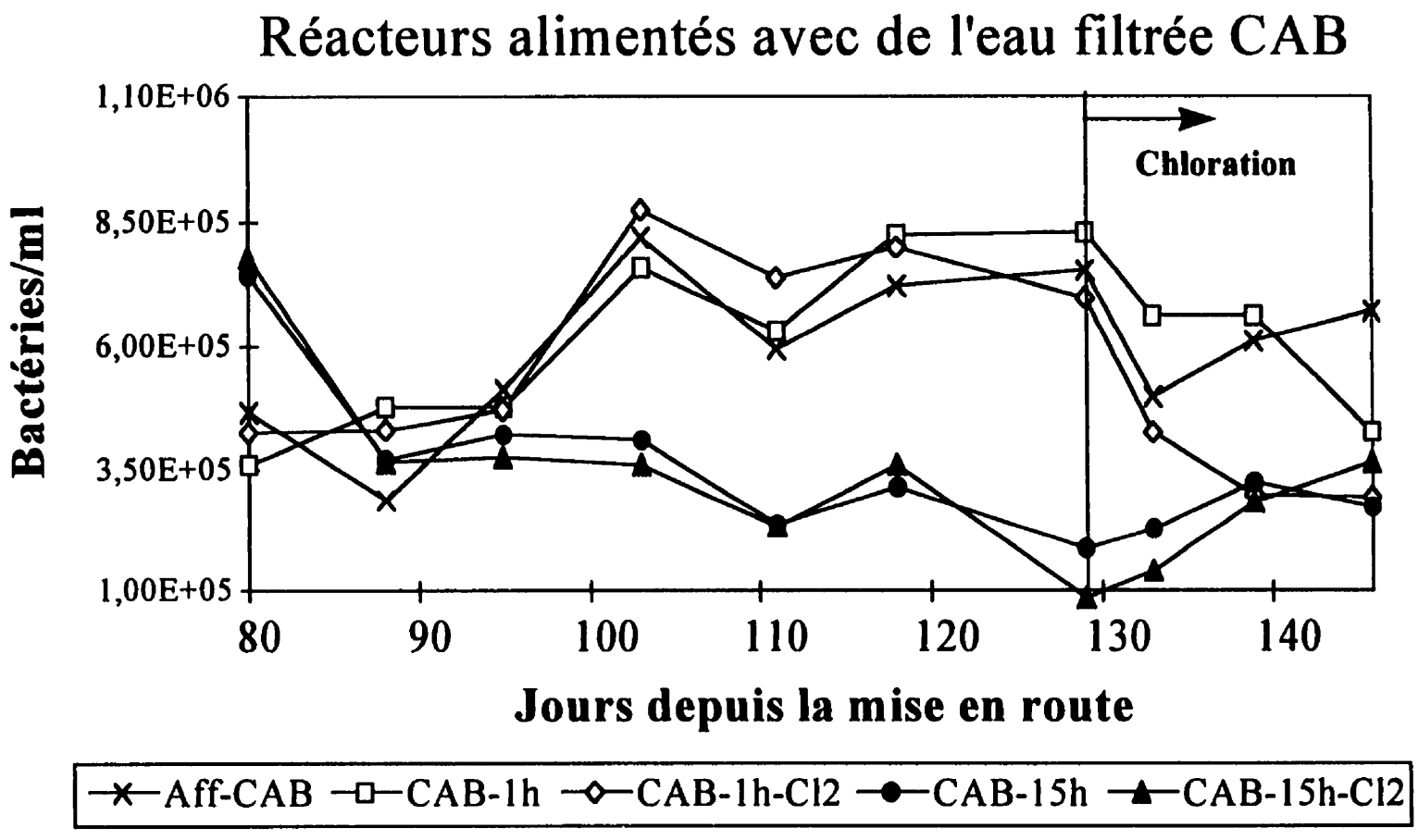


Figure 1.10: Évolution des comptes totaux de bactéries libres pour les réacteurs alimentés avec de l'eau filtrée sur CAB.

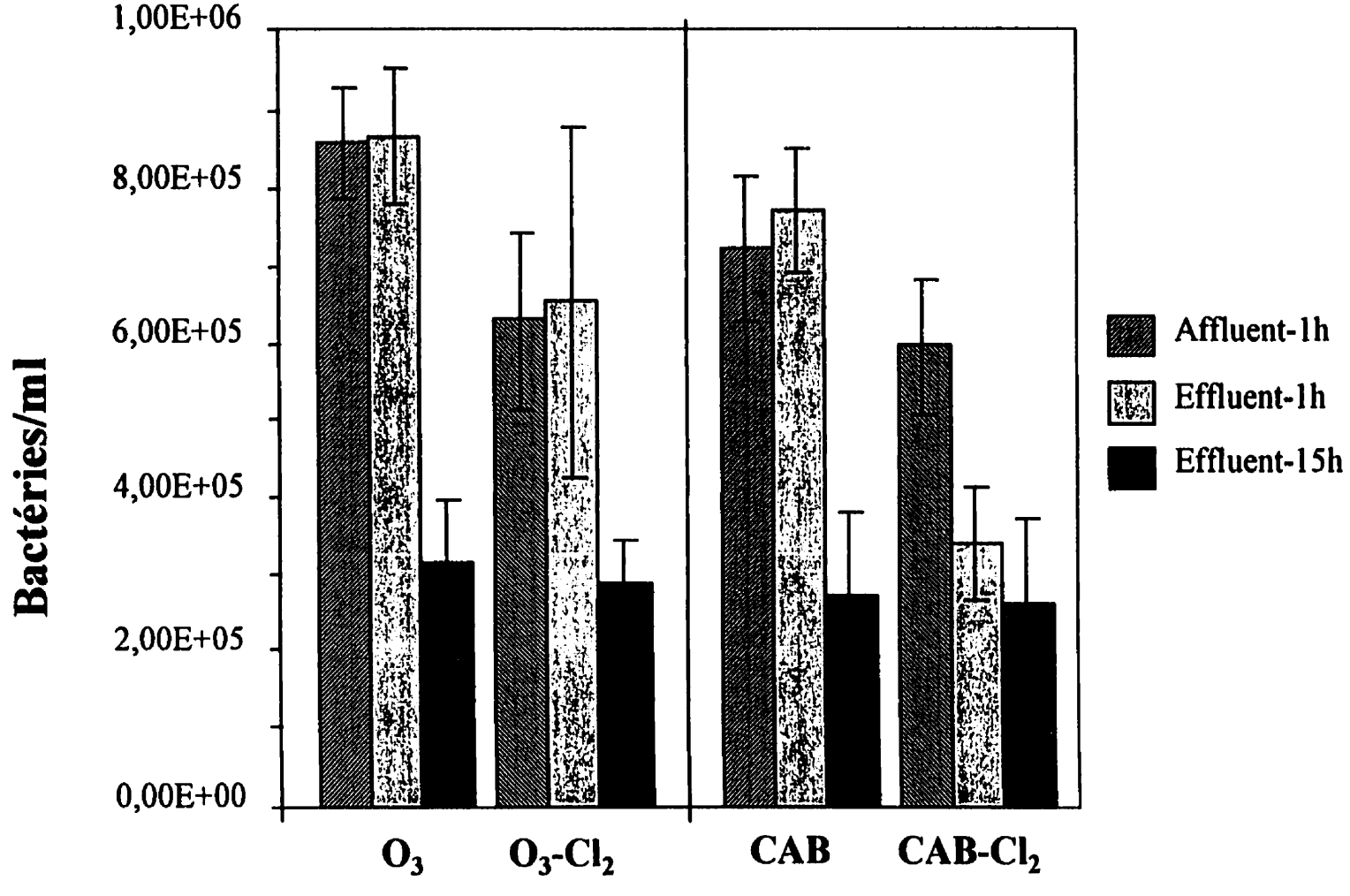


Figure 1.11 Comparaison des valeurs moyennes de dénombrements totaux de bactéries par microscopie en épifluorescence.

L'évolution de la biomasse libre en fonction du temps (figures 1.9 et 1.10) ainsi que les niveaux moyens (figure 1.11) sont similaires pour les deux types d'eau. Dans les deux cas, les dénombrements bactériens moyens entrant et sortant des réacteurs 1h sont équivalents. (Affluent O_3-1h : $8,6*10^5 \pm 0,7*10^5$ bactéries/ml; effluents O_3-1h : $8,7*10^5 \pm 0,9*10^5$ bactéries/ml; Affluent CAB-1h : $7,2*10^5 \pm 0,9*10^5$ bactéries/ml; effluents CAB-1h : $7,7*10^5 \pm 0,8*10^5$ bactéries/ml). La situation est différente pour les réacteurs 15h, puisque les dénombrements bactériens à l'effluent des réacteurs 15h (effluents O_3-15h : $3,2*10^5$ ● $0,8*10^5$ bactéries/ml et effluents CAB-15h : $2,7*10^5 \pm 1*10^5$ bactéries/ml) sont plus faibles que les valeurs à l'effluent des réacteurs 1h correspondants. C'est donc dire que pour les deux types d'eau, une diminution de bactéries est observée suite à l'action des réacteurs 15h.

Les diminutions du nombre de bactéries sont de $5,5*10^5 \pm 1,7*10^5$ bactéries/ml pour les réacteurs O_3-15h et de $5*10^5 \pm 1,8*10^5$ bactéries/ml pour les réacteurs CAB-15h. L'apparente baisse du nombre de bactéries par les réacteurs 15h est surprenante. En effet, à l'équilibre, un relargage de bactéries attribuable à un détachement de biomasse fixée devrait maintenir les conditions d'exportation de biomasse libre (LeChevallier *et al.*, 1987, 1991 ; Servais *et al.*, 1992b). Un broutage de bactéries par des protozoaires est une hypothèse qui pourrait expliquer la consommation nette de bactéries. Selon une compilation de Servais *et al.*, (1992c), la présence de protozoaires peut augmenter de 0,15 h^{-1} la constante de mortalité (réaction d'ordre 1 par rapport à une population

bactérienne). Il est possible d'imaginer un équilibre dans les réacteurs 15h pour lequel la mortalité de la biomasse fixée est supérieure à sa croissance à cause d'un broutage de protozoaires. Le niveau de biomasse fixée serait alors maintenu par l'adsorption et la fixation continuelle de bactéries libres. Aussi, les protozoaires pourraient s'attaquer directement à la biomasse libre, venant diminuer sa concentration dans l'effluent. Une accumulation de protozoaires plus importante dans les réacteurs 15h pourrait s'expliquer par le taux de dilution plus faible des réacteurs 15h.

On observe, après le début de la chloration, une légère diminution de la densité des bactéries libres à l'affluent des réacteurs 1h-Cl_2 (affluent O_3-Cl_2-1h : $6,3*10^5 \pm 1,1*10^5$ bactéries/ml; affluent CAB-1h : $5,9*10^5 \pm 0,9*10^5$ bactéries/ml) et aussi à leurs effluents (effluent O_3-Cl_2-1h : $6,5*10^5 \pm 2,3*10^5$ bactéries/ml; effluent CAB-1h : $3,4*10^5 \pm 0,7*10^5$ bactéries/ml).

La chloration n'a pas eu peu d'effet notable sur le nombre de bactéries libres à l'effluent des réacteurs 15h (effluent O_3-Cl-15h-Cl : $2,9*10^5 \pm 0,6*10^5$ bactéries/ml; effluent CAB-15h-Cl : $2,6*10^5 \pm 1,1*10^5$ bactéries/ml), ce qui est logique puisque tout le chlore est consommé par les réacteurs 1h. Cependant, puisque une légère diminution des dénombrements bactériens a été observée à l'affluent des réacteurs 15h, le résultat net de la chloration suggère une légère augmentation de la croissance dans les réacteurs 15h. Ceci illustre bien l'effet protecteur indirect des dépôts de corrosion sur les bactéries

libres, les dépôts de corrosion exerçant une demande en chlore importante qui élimine le chlore dans la phase liquide.

1.5.2 Réacteurs de polycarbonate

La partie de l'étude pilote réalisée avec trois réacteurs en polycarbonates avait pour objectif d'évaluer l'influence de la filtration biologique et de la chloration sur la densité de la biomasse fixée en absence de corrosion. Une comparaison des résultats obtenus avec les réacteurs en fonte devrait fournir des informations sur l'influence du matériau et de la corrosion sur l'efficacité de la désinfection.

1.5.2.1 Biomasse fixée : méthode de l'AEP

Le suivi de la densité de la biomasse fixée a été réalisé uniquement par la méthode de l'AEP (figure 1.12). Cette figure montre, qu'avant la chloration, la densité de biomasse fixée est plus importante dans les réacteurs 1h ($1,9*10^7 \pm 0,6*10^6$ bactéries/cm^2) que dans le réacteur 15h ($2,9*10^6 \pm 1*10^6$ bactéries/cm^2).

La figure 1.12 montre aussi que la chloration des réacteurs de polycarbonate a diminué la densité de biomasse fixée. L'effet du chlore est important dans le réacteur 1h-Cl_2 mais également dans le réacteur 15h . La chloration a entraîné une diminution de près de 2 log de la densité de biomasse fixée pour le réacteur 1h et une diminution de 1 log dans le réacteur 15h.

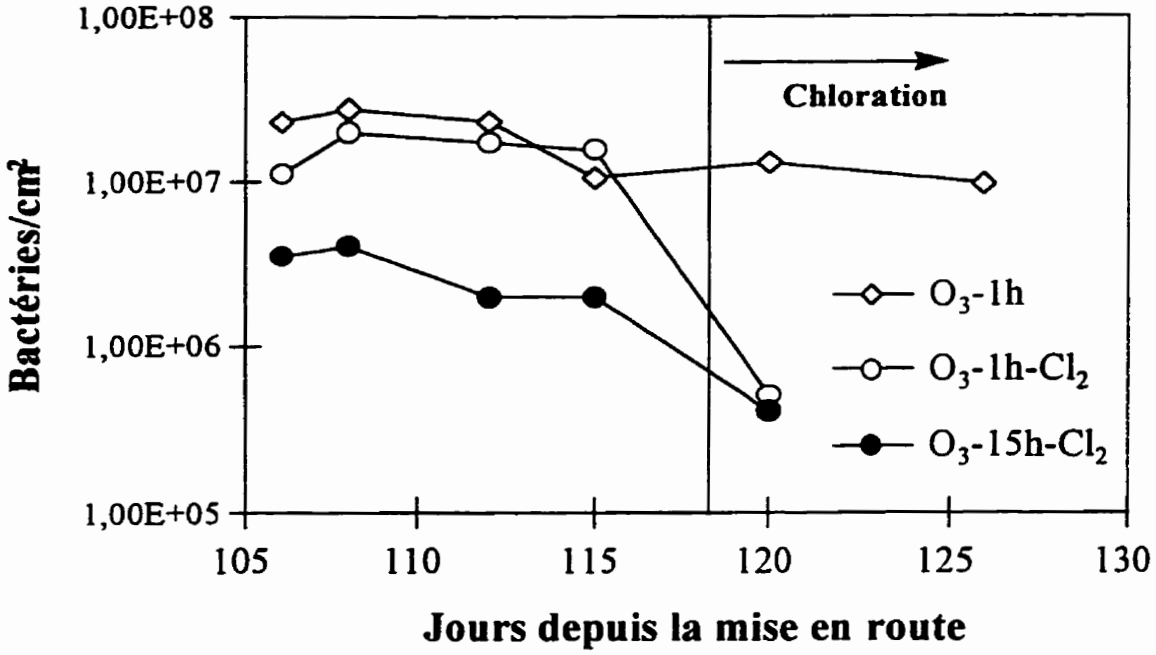


Figure 1.12 Mesure de la densité de biomasse fixée dans les réacteurs de polycarbonate par la méthode de l'AEP.

La figure 1.13 montre les résultats des dénombrements directs de bactéries libres à l'affluent et à l'effluent des réacteurs annulaires en polycarbonate par microscopie en épifluorescence. On n'observe pas de différence entre l'affluent et l'effluent des réacteurs O_3-1h et O_3-15h. La chloration a causé une légère diminution des dénombrements de bactéries à l'affluent et à l'effluent du réacteur 1h, mais n'a pas eu d'influence sur l'effluent du réacteur 15h.

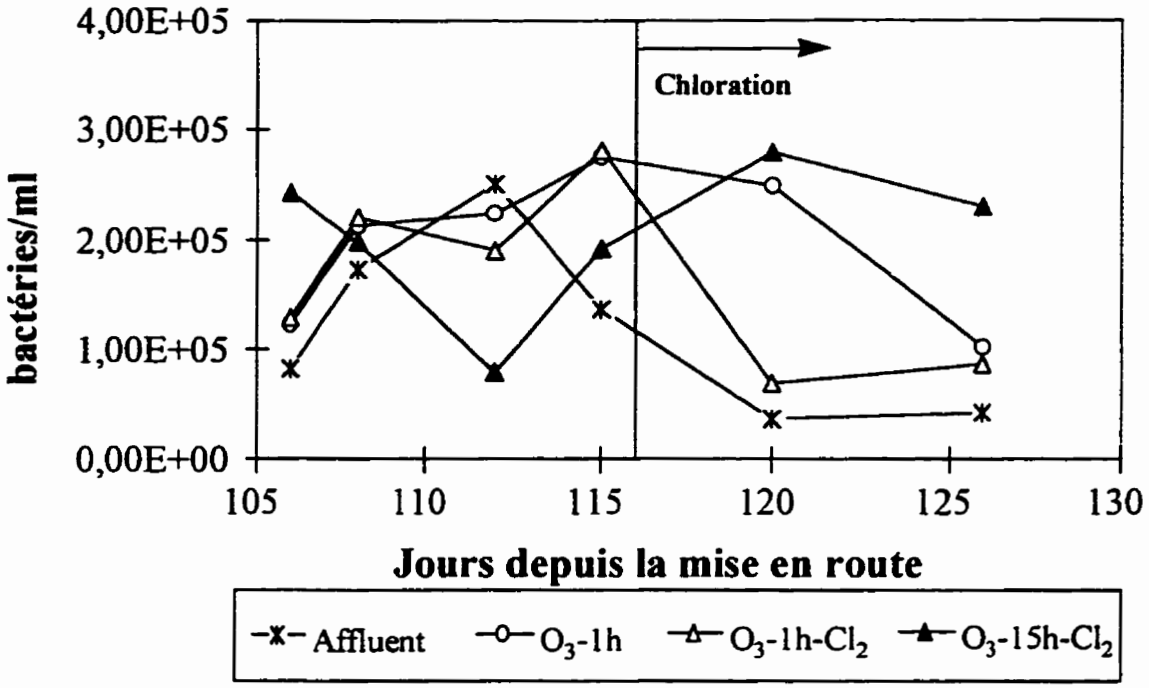


Figure 1.13 Mesure de la densité de biomasse libre par dans les réacteurs annulaires alimentés par de l'eau ozonée (dénombrements directs totaux en épifluorescence avec coloration à l'orangé acridine).

1.6 Comparaisons : réacteurs de fonte et réacteurs de polycarbonate

Les valeurs moyennes de densité de biomasse fixée dans les réacteurs en polycarbonate sont inférieures à celles observées dans les réacteurs de fonte. Le tableau 1.6 permet de comparer les valeurs obtenues.

Tableau 1.6 Comparaison des moyennes de densité de biomasse fixée (méthode de l'AEP) dans les réacteurs de fonte et dans les réacteurs de polycarbonate.

Réacteurs	**Fonte (bactéries/cm^2)**	**Polycarbonate (bactéries/cm^2)**	**Ratio (fonte/polycarbonate)**
O_3-1h	$3,8 * 10^7 \pm 1 * 10^7$	$1,9 * 10^7 \pm 0,6 * 10^7$	2
O_3-15h	$5,1 * 10^7 \pm 1 * 10^7$	$2,9 * 10^6 \pm 1 * 10^6$	18
O_3-1h-Cl_2	$4,2 * 10^7 \pm 0,5 * 10^7$	$5,0 * 10^5 \pm 5 * 10^5$	84
O_3-15h-Cl_2	$4,9 * 10^7 \pm 2 * 10^7$	$4,0 * 10^5 \pm 5 * 10^5$	122

Les ratios de biomasse fixée pour les réacteurs non chlorés, O_3-1h (2 fois) et O_3-15h (18 fois), montrent que les réacteurs en fonte peuvent supporter une densité de biomasse fixée plus grande que les réacteurs en polycarbonate. Ces résultats sont en accord avec ceux de Camper *et al.* (1995a) qui ont observé des densités de bactéries fixées environ 10 fois plus élevées avec des réacteurs de fonte ductile comparativement à celles obtenues avec des réacteurs de polycarbonate.

La plus grande densité de biomasse fixée dans les réacteurs en fonte pourrait être causée par la présence d'un plus grand nombre de sites d'attachement sur la fonte suite au développement de corrosion. (LeChevallier *et al.*, 1993). D'ailleurs, Block (1992) a montré, dans des conditions où le chlore résiduel est faible ou non détectable, que la fonte ductile supporte une densité de biomasse supérieure à celle supportée par des matériaux plus résistants à la corrosion comme l'acier inoxydable et le ciment. Outre l'effet du matériau, le ratio surface/volume, plus grand pour les réacteurs en polycarbonate (2,5 cm^{-1}) que pour les réacteurs en fonte (1,9 cm^{-1}), pourrait expliquer

une partie des différences observées. En effet, la charge de substrat par unité de surface diminue lorsque le ratio surface/volume augmente.

Les ratios de biomasse fixée beaucoup plus élevés associés aux comparaisons de réacteurs chlorés (O_3-1h-Cl_2 : 84 et O_3-15h-Cl_2 : 122) que ceux associés aux comparaisons de réacteurs non chlorés (O_3-1h : 2 et O_3-15h : 18) suggèrent que la biomasse fixée sur de la fonte corrodée est beaucoup mieux protégée de la chloration que celle fixée sur du polycarbonate. Cela est en accord avec LeChevallier *et al.* (1990, 1993) qui ont montré avec une étude en réseau pilote que les bactéries colonisant une surface de fonte ductile corrodée résistent mieux à la désinfection que celles colonisant une surface de chlorure de polyvinyle.

Finalement, les ratios de biomasse fixée associés aux comparaisons de réacteurs 15h, sont supérieurs à ceux associés aux comparaisons de réacteurs 1h (18 versus 2 pour les réacteurs non chlorés et 128 versus 84 pour les réacteurs chlorés). Peut-être que cette plus faible densité dans le réacteur de polycarbonate 15h s'explique par une utilisation plus efficace des substrats disponibles dans les réacteurs de polycarbonate 1h comparativement l'utilisation des substrats dans les réacteurs de fonte 1h.

En effet, les essais avec les réacteurs de polycarbonates ont été complétés en été avec une température moyenne de l'eau plus élevée (environ 20°C), ce qui a pu accélérer les processus enzymatiques menant à l'assimilation des substrats dans ces réacteurs.

La présence de protozoaire dans le réacteur de polycarbonate 15h pourrait aussi expliquer la plus faible densité de bactéries fixées observée dans ce réacteur. En effet, la présence de protozoaire est favorisée dans un réacteur opéré à long temps de séjour à cause de la dilution qui est plus faible. Aussi, la température de l'eau plus élevée dans les réacteurs de polycarbonate aurait pu favoriser la croissance de protozoaires. Finalement, le ratio surface/volume plus élevé des réacteurs de polycarbonate suggère lui aussi une assimilation plus facile des substrats à court temps de séjour dans ces réacteurs.

1.7 Comparaisons : Méthode de l'AEP et dénombrements de BHA

La figure 1.8 permet de comparer les résultats des mesures de biomasse fixée obtenus avec la méthode de l'AEP avec ceux obtenus par des dénombrements de BHA après décrochage. Les deux méthodes mettent en évidence une plus faible densité de biomasse fixée dans les réacteurs CAB-1h. Cependant, à la différence de la méthode de l'AEP, les dénombrements de BHA après décrochage révèlent une plus faible densité de biomasse fixée dans les réacteurs O_3-1h comparativement à celle des réacteurs O_3-15h. Les niveaux de biomasse fixées mesurées avec les deux méthodes sont du même ordre de

grandeur pour les réacteurs 15h. Cependant, pour les réacteurs 1h, la méthode des dénombrements de BHA après extraction mesure des niveaux de biomasse fixée plus d'un log plus faible que ceux mesurés par la méthode de l'AEP. Cela signifie que la méthode des dénombrements de BHA montre une plus grande différence de biomasse fixée entre les réacteurs 1h et 15h pour les deux types d'eau.

Il est possible que la méthode des dénombrements de BHA cultivables sur gélose après extraction sous-estime la biomasse fixée dans les réacteurs chlorés à cause de l'augmentation de la fraction de bactéries viables mais non cultivables résultant de l'action du chlore ou du manque de substrats (Byrd *et al.*, 1991; Coallier *et al.*, 1993; McFeters, 1990; Reasoner, 1990). Aussi, l'effet du chlore sur la méthode de l'AEP est peu documenté, probablement parce que cette méthode est relativement récente. Une sous-estimation de la densité de biomasse fixée, suite à l'agression par le chlore des exo-enzymes bactériens dont l'activité est reliée à la densité de la biomasse par la méthode de l'AEP, est une hypothèse qui n'a pas été rejetée à ce jour. La figure 1.8 permet d'évaluer un possible biais causé par la chloration sur les résultats de dénombrements de BHA sur gélose. La figure 1.8 ne montre pas de différence importante de l'impact de la chloration sur les résultats obtenus par ces deux méthodes de mesure de la biomasse fixée. Cette observation suggère que, dans les conditions étudiées, la chloration n'a pas eu d'impact sur les méthodes de mesure de la biomasse fixée ou qu'elle a eu un effet équivalent sur les deux méthodes.

1.8 Comparaisons : réacteurs annulaires et réseaux de distribution

Les différences entre un montage de réacteurs annulaires et un réseaux de distribution sont principalement reliées au ratio surface/volume, aux conditions d'écoulement ainsi qu'au type d'écoulement (Camper *et al.*, 1996 ; Characklis et Marshall, 1990):

1) Le ratio surface/volume.

Le ratio surface/volume dans les réacteurs annulaires est beaucoup plus important que dans une canalisation de diamètre moyen puisqu'il équivaut à celui d'une canalisation de 2,1 mm de diamètre pour les réacteurs de fonte et 1,6 mm de diamètre pour les réacteurs de polycarbonate. Le ratio surface/volume influence le flux de substrats ainsi que les phénomènes d'adsorption/désorption.

2) Les conditions hydrauliques.

Les caractéristiques hydrauliques dans les réacteurs sont beaucoup plus stables dans un réseau de distribution où ces conditions varient en fonction de la demande en eau. Les changements rapides de la vitesse d'écoulement causent de fortes perturbations. Les forces de cisaillement exercées sur le biofilm fixé sur la paroi interne des conduites varient considérablement en fonction des vitesses d'écoulement alors qu'elles sont constantes dans un réacteur annulaire. De plus, la pression de l'eau dans un réseau de distribution (400 à 650 kpa ou 60 à 90 psi) est beaucoup plus élevée que dans les réacteurs annulaires qui ne sont pas pressurisés. L'influence directe de la pression ou

indirecte par son action sur les forces de cisaillement exercées sur le biofilm est méconnue.

3) Type d'écoulement.

Les réacteurs utilisés possèdent un écoulement de type complètement mélangé (Davis, 1994 ; Gjaltema *et al.*, 1994) tandis que l'écoulement dans les réseaux de distribution varie de complètement mélangé à piston. De plus, des gradients de substrats, de résiduel d'oxydant, et de température sont présents en réseau et influencent la croissance de la biomasse. Bien que les réacteurs annulaires aient été alimentés en série de façon à simuler les gradients de substrats et de biomasse libres retrouvés en réseau de distribution, deux niveaux de substrats ne sont pas suffisants pour simuler les gradients complexes existant dans les réseaux réels.

Malgré toutes ces différences, il a été montré que les tendances obtenues avec les réacteurs annulaires sont cohérentes avec celles obtenues avec un réseau de distribution pilote (Camper *et al.*, 1996). Cependant, ces auteurs mentionnent que les densités de biomasse fixée en réacteur annulaire sont dix fois supérieures pour les bactéries hétérotrophes et 4 fois supérieures pour les bactéries coliformes.

Des campagnes d'échantillonnage ont été réalisées sur les réseaux de distribution de la Ville de Laval entre janvier 1993 et juillet 1994. Les résultats obtenus pour les réacteurs

alimentés avec de l'eau ozonée peuvent être comparés avec ceux obtenus pour les réseaux de Pont-Viau et Chomedey. Ces réseaux de distribution sont alimentés par des usines où une post-ozonation des eaux est réalisée avant la chloration. En général, les niveaux de CODB à la sortie de ces usines sont supérieurs à ceux mesurés à la sortie de l'usine Ste-Rose. De la même façon, il est possible de comparer les résultats obtenus pour les réacteurs alimentés avec de l'eau filtrée CAB avec ceux provenant du réseau de distribution alimenté par l'usine Ste-Rose. Le tableau 1.7 présente les densités moyennes de biomasse fixée mesurées par la méthode de l'AEP et par des dénombrements de BHA sur gélose pour les réseaux Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada) et de Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada) durant l'été 1994, ainsi que les moyennes de biomasse fixée dans les réacteurs de fonte chlorés obtenues avec les mêmes méthodes.

Tableau 1.7 Ordre de grandeur des densités de biomasse fixée dans les réseaux Ste-Rose et Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada) en été ainsi que dans les réacteurs de fonte chlorés.

	Biomasse fixée : AEP (Bactéries/cm^2)	**Biomasse fixée : BHA (UFC/cm^2)**	**Ratio Réacteurs/réseau**	
			AEP	**BHA**
Ste-Rose (06/07/94)	$2,5 * 10^7$	$2,3 * 10^6$	1,5	0,9
R. fonte CAB-Cl_2	$3,8 * 10^7$	$2.1 * 10^6$		
Chomedey (13/07/94)	$3,1 * 10^7$	$3,6 * 10^6$	1,5	0,7
R. fonte O_3-Cl_2	$4,6 * 10^7$	$2,5 * 10^6$		

Les ratios (biomasse fixée réacteur/biomasse fixée réseau) sont de 1,5 pour la méthode de l'AEP pour les deux types d'eau. Ces ratios sont plus faibles pour la méthode par dénombrements de BHA soit 0,9 pour l'eau filtrée CAB et 0,7 pour l'eau ozonée. Cependant, des ratios beaucoup plus élevés auraient été obtenus en utilisant des échantillonnages réalisés en eaux froides ou tièdes. À cause des différences entre les réseaux de distribution et les réacteurs annulaires, cette étude n'avait pas pour objectif de générer en réacteurs annulaires des densités de biomasse fixées identiques à celles des réseaux de distribution. L'objectif était plutôt d'obtenir des tendances permettant de dégager l'effet des différents paramètres étudiés.

1.9 Conclusion

Les essais en réacteurs annulaires avaient pour principal objectif de préciser l'influence de la filtration biologique sur la stabilité de l'eau produite. Les résultats obtenus ont montré que la réduction du CODB par la filtration biologique diminue la densité de la biomasse fixée. Cet effet de la filtration biologique s'est principalement manifestée dans les réacteurs n'ayant qu'une heure de temps de séjour, là où le CODB facilement biodégradable est normalement consommé. Le type d'eau n'a toutefois pas eu d'influence sur la densité de biomasse fixée dans les réacteurs opérés à long temps de séjour (15 h), suggérant que la filtration biologique permet principalement de diminuer la recroissance au début du réseau de distribution, du moins en l'absence de chloration.

Le deuxième objectif de ces essais était de montrer l'effet du matériau sur la recroissance et sur son contrôle par la désinfection au chlore. Une chloration continue des réacteurs avec des doses de 1,0 et 1,5 mg Cl_2/l pendant plus d'un mois n'a pas permis de satisfaire la demande en chlore des réacteurs de fonte. L'importante corrosion de la surface interne dans les réacteurs de fonte est probablement responsable de cette demande en chlore accrue, fournissant par la même occasion des sites d'attachement pour le biofilm ainsi qu'une protection contre l'action du chlore. La chloration n'a pas eu d'effet sur la densité de biomasse fixée dans les réacteurs de fonte. L'influence du matériau sur la densité de biomasse fixée et sur l'efficacité de la désinfection par le chlore a été confirmée par les essais en réacteurs annulaires de polycarbonate. En présence de chlore, il y a eu une diminution rapide de la biomasse fixée mesurée dans ces réacteurs, et cet effet s'est poursuivi dans les réacteurs exploités à 15 heures de temps de séjour. De plus, en absence de chlore, la densité de biomasse fixée dans les réacteurs en fonte a été beaucoup plus grande que dans les réacteurs en polycarbonate. La différence attribuable à la nature du matériel est plus grande que celle attribuable à la réduction de la teneur en CODB par la filtration biologique. Cette observation démontre l'importance du contrôle de la corrosion dans une stratégie globale du contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution. En effet, la présence de dépôts de corrosion dans les conduites peut augmenter les densités de biomasse fixée et constituer un obstacle majeur au maintien d'un résiduel de chlore.

Finalement, ces essais avaient pour objectif d'évaluer la pertinence de l'utilisation de réacteurs annulaires pour l'étude de l'impact des traitements, des matériaux et de la chloration sur la stabilité microbiologique de l'eau. Nos essais ont montré que bien que les densités de biofilm s'avèrent généralement plus élevées dans les réacteurs annulaires que dans les réseaux de distribution, les réacteurs s'avèrent de bons outils de recherche et de diagnostic. En effet, les tendances observées en réacteurs annulaires permettent d'obtenir des renseignements pertinents au niveaux des facteurs contrôlant la recroissance en réseau de distribution. C'est pourquoi, avec leur coût relativement faible et leur polyvalence, les réacteurs annulaires sont des outils intéressants. Les résultats obtenus en réacteurs annulaires, associés à un effort de modélisation pourraient permettre de mieux définir l'influence des différents paramètres sur la recroissance bactérienne en réseau de distribution comme l'effet du chlore, de la teneur en substrats, de la température du temps de résidence et des matériaux.

CHAPITRE II : LES ACIDES AMINÉS: EFFICACITÉ DES TRAITEMENTS ET DEVENIR DANS LES RÉSEAUX DE DISTRIBUTION

2.1 Mise en contexte

Ce chapitre présente le suivi des acides aminés dans les filières de traitement des usines Ste-Rose et Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada). Une partie des résultats ont fait l'objet d'une présentation (Gauthier *et al.* 1994) et d'un article (Hureïki *et al.*, 1996).

2.2 Introduction

Bien que présent en faibles concentrations (1 à 3 % du COD), les acides aminés libres et combinés sont présents à toutes les étapes de traitement d'eau potable (Le Cloirec-Renaud, 1984; Scully *et al.*, 1988; Berne-Dossier *et al.*, 1994). Ces composés contribuent de façon non négligeable à la demande en chlore des eaux traitées (Jadas-Hécart, 1989; Hureiki *et al.*, 1994) et sont reconnus être fortement précurseurs de composés organohalogénés (Hureiki *et al.*, 1994). De plus, ils représentent une fraction importante du carbone organique dissous biodégradable (CODB) et possèdent un fort rendement de croissance (Connolly *et al.*, 1994). Ces caractéristiques nous ont orienté vers le suivi de l'évolution des acides aminés totaux dans les filières de traitement et les réseaux de distribution des usines Ste-Rose et Chomedey. Cette étude a permis de

préciser l'influence de chaque étape de traitement sur la teneur en acides aminés totaux. Le but principal a été de vérifier l'efficacité d'élimination de cette fraction de CODB par les filtres en charbon actif biologique dont l'une des fonctions est justement de diminuer le potentiel de recroissance de l'eau traitée.

2.3 Matériel et méthodes

2.3.1 Filières de traitement

La figure 2.1 illustre les différentes étapes de traitement des deux usines étudiées: Chomedey et Sainte-Rose (Ville de Laval, Québec, CANADA). L'usine Chomedey puise son eau brute dans la rivière des Prairies. La teneur en carbone organique dissous des eaux de cette rivière varie saisonnièrement de 5 à 8 mg C/l. Cette filière de traitement présente les étapes suivantes: coagulation (alun et silice activée) et décantation dynamique, filtration rapide sur sable et anthracite suivie d'une ozonation et d'une post-désinfection par le chlore l'été ou le bioxyde de chlore l'hiver. Le débit nominal de cette usine est de 180 000 m^3 /d .

L'usine Ste-Rose puise son eau brute dans la rivière des Mille-Iles. Les eaux de cette rivière ont une teneur en carbone organique qui varie avec les saisons (5 à 8 mg C/l de COT). Cette usine emploi les mêmes procédés de traitement que l'usine de Chomedey avec en plus un traitement biologique (ozonation et une filtration sur charbon actif

biologique) après la filtration rapide. La désinfection finale est effectuée par ajout du bioxyde de chlore. Le débit nominal de cette usine est de 110 000 m^3/d. Les réseaux de ces deux usines, quoique reliés, possèdent des zones d'influence bien déterminées. Les temps de séjours de l'eau en réseau ont été déterminés à l'aide du logiciel PICCOLO et les échantillons ont été prélevés directement sur des conduites secondaires de fonte grise de 150 mm de diamètre.

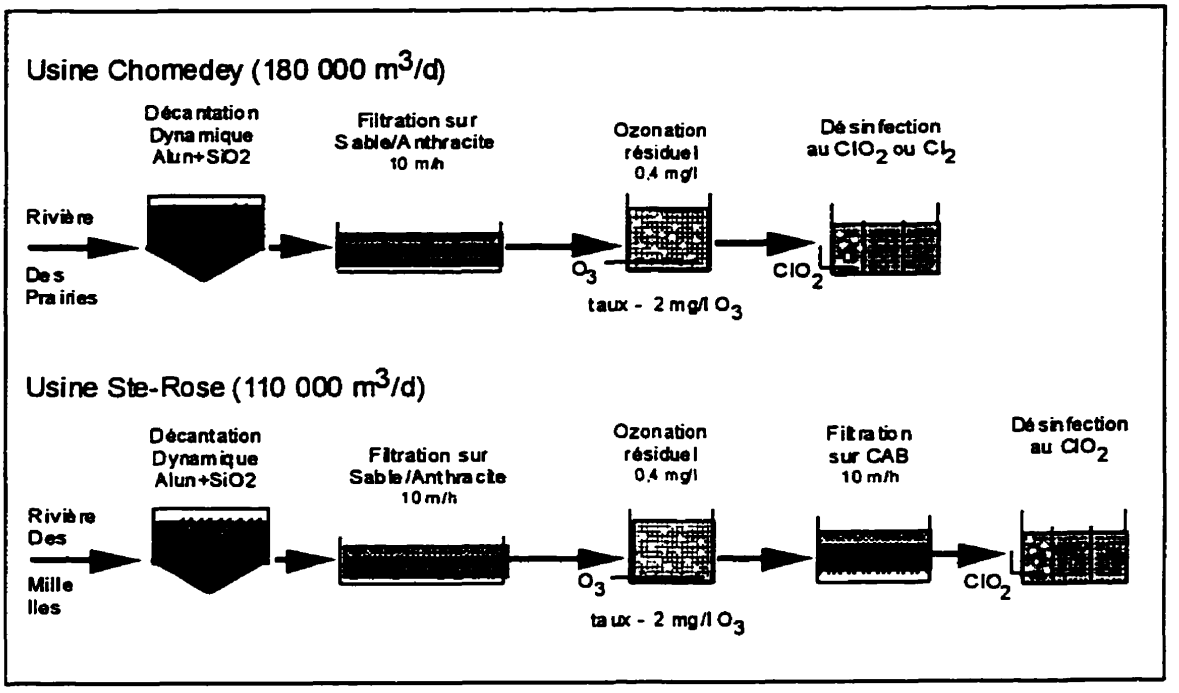


Figure 2.1 Description de deux usines de production d'eau potable de la Ville de Laval (Québec, Canada).

2.3.2 Analyse des acides aminés

Les acides aminés totaux sont mesurés par dérivation pré-colonne avec l'ortho-phtaldialdéhyde, suivie par une séparation par chromatographie liquide haute performance (CLHP, Waters, Milford, MA, USA) à l'aide d'une colonne de type C18 et d'une détection en fluorescence (λ excitation = 335 nm, λ émission = 425 nm) selon la méthode décrite par Jones (1983). Cette méthode a été optimisée par Berne-Dossier (1994). Une hydrolyse acide en phase gazeuse, d'une durée de 3 heures à 120 °C est nécessaire avant l'analyse des échantillons par CLHP. L'hydrolyse des échantillons est réalisée à l'aide de la station Pico-Tag (Waters, Milford, MA, USA). Cette hydrolyse permet la mesure des acides aminés totaux (AAT) qui correspondent aux acides aminés libres et aux acides aminés combinés à différentes molécules. La calibration est réalisée avec le mélange d'acides aminés SIGMA AA-S-18, (St-Louis, MO , USA).

2.3.2.1 Quantification et limites de détection

Les profils chromatographiques peuvent varier légèrement d'un échantillonnage à l'autre notamment à cause de la détérioration progressive de la colonne. En conséquence, chaque série d'analyses d'acides aminés est quantifiée avec une droite d'étalonnage réalisée dans la journée même de l'analyse. Les solutions étalons d'acides aminés sont préparées par dilution d'une solution étalon de 15 acides aminés libres "HPLC grade" (SIGMA, St-Louis, MO, USA) dans de l'eau ultra-pure (MilliQ, Waters Milford, MA,

USA) et analysées dans les mêmes conditions que les échantillons. La limite détection, aussi appelé Lower Limit of Detection ou LOD, a été déterminée expérimentalement tel que suggéré (APHA, 1992). Les limites de détections obtenues sont présentées au tableau 2.1.

Tableau 2.1 Limites de détection expérimentales (Lower limit of Detection) pour l'analyse des acides aminés par CLHP.

Acides aminés	Limites de détection (µM)	Limites de détection (mg C/l)
Alanine	0,026	0,0010
Arginine	0,018	0,0014
Asparagine	0,036	0,0007
Glutamine	0,034	0,0014
Glycine	0,029	0,0017
Histidine	0,022	0,0009
Isoleucine	0,019	0,0009
Leucine	0,023	0,0012
Lysine	0,018	0,0017
Methionine	0,021	0,0020
Phenylalanine	0,049	0,0013
Serine	0,025	0,0016
Thréonine	0,018	0,0013
Tyrosine	0,023	0,0053
Valine	0,023	0,0025
Total	**0,38 µM**	**0,025 mg C/l**

Note : LLD = Concentration produisant un signal détectable dans 99% des essais aussi appelée LOD: Limit of Detection (APHA, 1992).

2.3.2.2 Évaluation du rendement d'hydrolyse

L'étude de l'impact de l'hydrolyse a été réalisée par Berne-Dossier (1994) pour une solution d'acides aminés libres. Cette dernière constate que les conditions utilisées, 3 heures à 120°C, permettent une récupération maximale. Hureiki (1993) a étudié l'hydrolyse de deux peptides, arg-lys-glu-val-tyr et ala-leu-ala-leu. L'analyse des acides aminés libérés après hydrolyse acide a montré qu'aucun des six acides aminés pris en compte n'est significativement affecté par le traitement de l'échantillon. Dans l'ensemble, cette étude a montré que les rendements d'hydrolyse moyens sont proches de 100 % pour l'acide glutamique, la tyrosine, la leucine, l'alanine, l'arginine et la lysine.

Une expérience comparant différents protocoles d'hydrolyse a été réalisée avec des étalons d'acides aminés libres (0,2 µM de chaque acide aminé) afin de confirmer l'efficacité des conditions d'hydrolyse. Les trois conditions d'hydrolyse choisies sont les suivantes : 1) 3 heures à 120 °C, 2) 50 minutes à 150 °C et finalement 3) 22 heures à 115 °C. Les résultats présentés à la figure 2.2 montrent que la meilleure combinaison de durée et de température est de 3 heures à 120 °C, ce qui rejoint les observations de Berne-Dossier (1994).

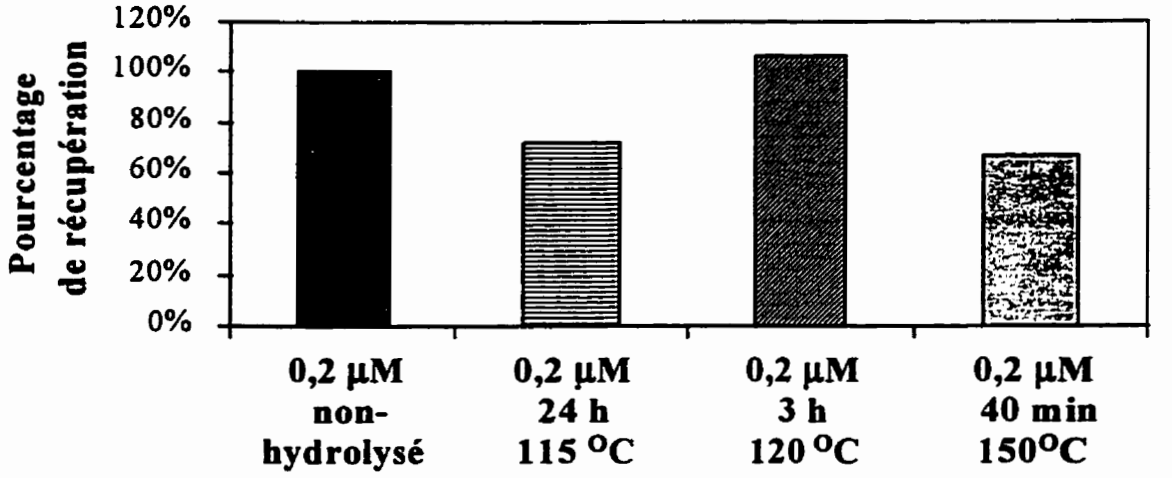


Figure 2.2 Pourcentage de récupération des 15 acides aminés libres pour trois conditions d'hydrolyse.

2.3.3 Analyse du COD et du CODB

Les analyses du COD et du CODB sont effectuées sur un appareil Dorhman DC 180 par oxydation UV-persulfate après filtration sur une membrane de 0,45 µm (Millipore, Bedford, MA, USA). La méthode d'analyse du CODB est celle décrite par Servais *et al.* (1987, 1989). L'inoculum utilisé est de l'eau brute filtrée sur une membrane de porosité de 2,7 µm (Millipore, Bedford, MA, USA). Pour s'assurer que le carbone soit l'élément limitant la croissance, une solution de sulfate d'ammonium $(NH_4)_2SO_4$ et de dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_4) de concentrations finales de 2,8 et 0,13 mg /l sont ajoutés aux échantillons.

2.4 Résultats

L'analyse des acides aminés totaux après hydrolyse a été réalisée après chaque étape de traitement afin de montrer l'influence de ces différents procédés sur leur concentration. Les résultats des mesures d'acides aminés totaux, exprimés en mg C/l, pour différentes étapes de traitement de la filière de traitement de Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada) sont présentés à la figure 2.3. Le suivi des acides aminés totaux a d'abord été réalisé en eaux chaudes à 16 °C (21.09.93). Un deuxième échantillonnage a eu lieu en eaux froides (< 2°C) le 31.01.94.

De même, les résultats des mesures effectuées sur la filière Ste-Rose sont présentés à la figure 2.4. Deux échantillonnages ont été effectués en eaux chaudes: un premier le 25.08.93 (22°C) et un deuxième le 28.09.93 (16°C). Pour ce deuxième échantillonnage, l'analyse des acides aminés totaux n'a alors été réalisée que pour un effluent de la filtration rapide sable et anthracite, un effluent de l'ozonation et un effluent de la filtration sur CAB. Deux échantillonnages additionnels ont été complétés en eaux froides les 25.01.94 et 13.03.94 (< 2°C). La teneur en acides aminés totaux des eaux prélevées aux différentes étapes de traitement varie de 0,057 à 0,251 mg C/l et représente entre 1,8 et 4,3 % du carbone organique dissous. La proportion maximale du CODB que représentent les acides aminés totaux est beaucoup plus élevée (13 à 81%). Cette proportion élevée est partiellement attribuable à la méthode de mesure de CODB utilisée pour nos mesures: la méthode en incubation batch de Servais-Billen peut sous-estimer la

concentration en CODB par un facteur allant jusqu'à 1,6 comparativement aux mesures réalisées avec une biomasse fixée (Volk, 1994).

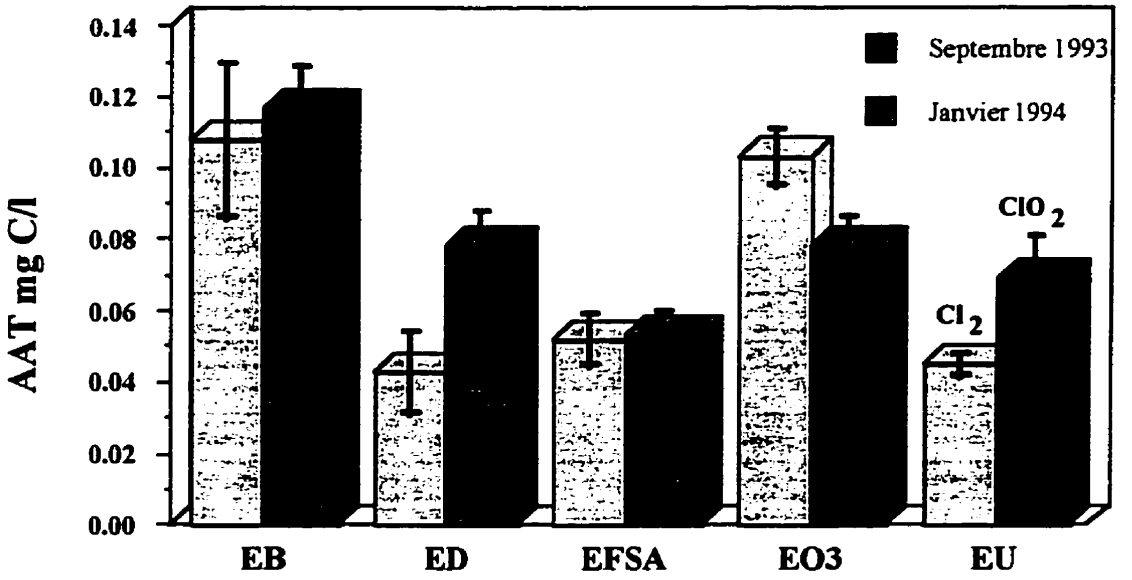


Figure 2.3 Variations saisonnières de la concentration en acides aminés totaux dans la filière de traitement de l'usine Chomedey, Ville de Laval, Québec, Canada (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable-anthracite, EO3: eau ozonée, EU: effluent usine).

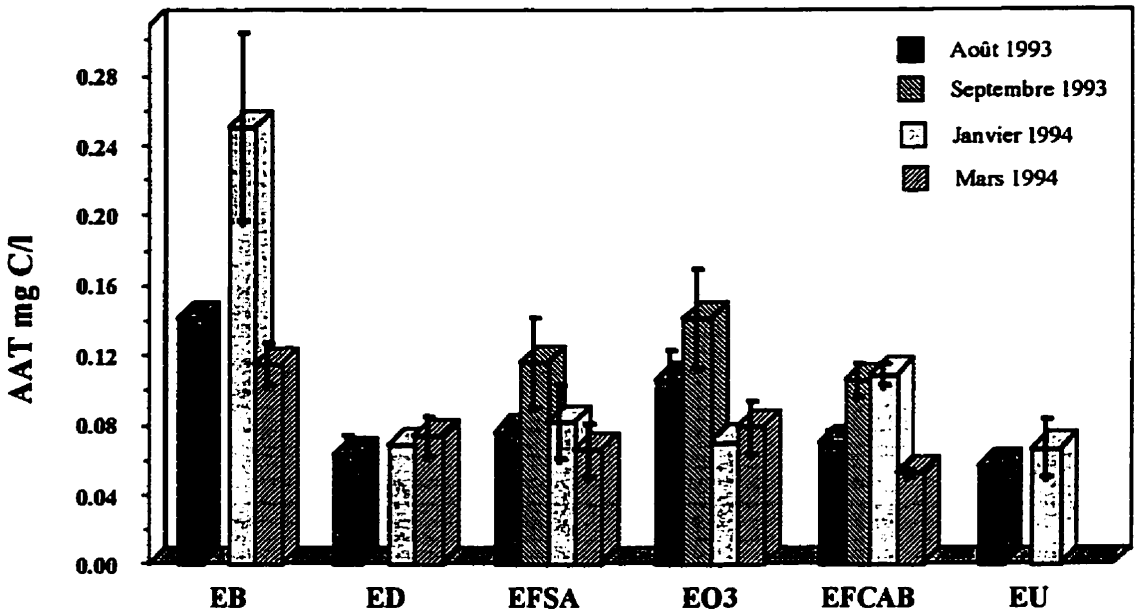


Figure 2.4 Variations saisonnières de la concentration en acides aminés totaux dans la filière de traitement de l'usine Ste-Rose, Ville de Laval, Québec, Canada (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable-anthracite, EO3: eau ozonée, EFCAB : eau filtrée charbon actif biologique, EU: effluent usine).

2.4.1 Eau brute

Dans l'eau brute, on note que la concentration en acides aminés totaux est relativement stable (0,12 à 0,14 mg C/l), à l'exception de l'échantillonnage d'hiver du 25.01.94 à l'usine Ste-Rose, (Ville de Laval, Québec, Canada) avec une valeur élevée de 0,25 mg C/l. Ces concentrations dans les eaux brutes sont caractéristiques de celles d'eaux de

surface eutrophes. En effet, pour des eaux de rivières, les concentrations en acides aminés totaux dissous varient de 0,05 à 1 mg C/l (Thurman, 1985).

2.4.2 Eau décantée

Des diminutions importantes (34-72%) en acides aminés totaux sont observées après coagulation-floculation (alun et silice activée) et décantation dynamique. Cette tendance a été signalée par Le Cloirec *et al.* (1983) concernant la teneur en acides aminés libres. D'après ces mêmes auteurs, cette étape pourrait surtout favoriser l'élimination des acides aminés combinés. L'augmentation de la charge ionique et l'abaissement du pH à une valeur d'environ 6,5 suite à l'ajout du $Al_2(SO_4)_3$, favorise la neutralisation des protéines et leur précipitation ou leur adsorption dans les flocs. D'ailleurs plusieurs techniques de précipitation des protéines font appel à une combinaison de méthodes dont l'ajout de sels ou de coagulants, de polymères, et le recours à la floculation (Bailey et Ollis, 1986).

2.4.3 Eau filtrée sur sable et anthracite

La filtration rapide en premier étage a un effet variable sur la concentration en acides aminés totaux. Généralement, on note une augmentation, de l'ordre de 20 %, qui pourrait résulter de la décomposition et de l'utilisation des matières algales accumulées par ces filtres. Les algues peuvent relarguer des concentrations mesurables de substrats rapidement biodégradables, comme des acides aminés et des matières protéiniques

(Connolly *et al.*, 1994). Ce relarguage est attribuable à l'excrétion extracellulaire, à la lyse ou encore aux pertes lors du broutage par les protozoaires.

2.4.4 Eau ozonée

L'ozonation augmente, à l'exception d'un seul cas (usine Ste-Rose le 25.01.94), la concentration mesurable en acides aminés. Cette augmentation varie de 20 à 100%. Comme certains acides aminés libres ou combinés dans des structures peptidiques sont détruits par l'ozonation, cette observation peut paraître surprenante (Hureiki *et al.*, 1994).

L'augmentation de la concentration en acides aminés totaux est observée pour les deux périodes estivale et hivernale. Cette augmentation pourrait être liée à l'effet de l'ozonation sur certaines matières organiques présentant des structures assez complexes ou des matières algales. L'ozonation pourrait entraîner l'oxydation partielle de certaines de ces molécules, rendant plus accessibles les acides aminés incorporés dans leur structure à l'hydrolyse et favorisant leur détection à l'analyse.

2.4.5 Eau filtrée sur charbon actif biologique (CAB)

Dans la majorité des cas, les résultats montre une diminution de la teneur en acides aminés totaux au niveau de la filtration sur charbon actif biologique de l'usine Ste-Rose.

Cette diminution varie de 24 à 34 %, sauf pour un échantillonnage en eaux froides (1°C, 25.01.94) où l'on note une augmentation de 54% de la teneur en acides aminés totaux. La diminution en eaux chaudes et tièdes peut être attribuée à un phénomène d'assimilation biologique des acides aminés par la biomasse fixée. En effet, le milieu filtrant dans les filtres CAB étudiés avait plus de 5 ans de service. Les acides aminés constituent un maximum de 45% du CODB dans l'effluent des filtres CAB, ce qui suggère qu'avec un plus long temps de contact, une hydrolyse bactérienne plus complète et une plus grande assimilation des acides aminés totaux pourraient être obtenues.

L'étape limitant le taux d'assimilation des acides aminés est l'hydrolyse des peptides et des protéines en acides aminés directement utilisables par la biomasse bactérienne (Billen *et* Servais, 1988). On pourrait s'attendre à ce que le taux d'hydrolyse des protéines soit plus lent en eaux très froides qu'en eaux chaudes, ce qui se traduirait par une diminution de l'enlèvement total des acides aminés totaux dans les filtres CAB, puisque le temps de contact y est constant. Or, en eaux très froides, nous avons observé une augmentation de la teneur en acides aminés. La source de ce relarguage en eaux froides demeure inexpliquée. Le chapitre 4 présente une discussion plus détaillée de ces phénomènes.

2.4.6 Eau désinfectée par le bioxyde de chlore ou par le chlore

Comme le montrent nos résultats, l'étape de post-oxydation par le bioxyde de chlore diminue la teneur en acides aminés totaux (12 à 39%). Les résultats réalisés concernant

la demande en bioxyde de chlore de onze acides aminés et d'un peptide (Hureiki *et al.*, 1994) ont pourtant confirmé la très faible réactivité des acides aminés avec cet oxydant. Les demandes en bioxyde de chlore obtenues dans des conditions similaires à celles utilisées à l'usine de traitement (pH 8, tampon phosphate) sont négligeables à l'exception des acides aminés présentant un cycle aromatique activé (cas de la tyrosine) ou un groupement soufré (cas de la méthionine).

La post-désinfection à l'usine Chomedey durant la période estivale s'effectue par ajout du chlore. Les résultats de la teneur en acides aminés totaux analysés à la sortie de l'usine le 29.09.93 montrent un abattement de plus de 60 %. Ces résultats s'expliquent par la grande réactivité de la plupart des acides aminés avec le chlore (Hureiki, 1993).

L'abattement d'acides aminés à l'étape de post-désinfection par le bioxyde de chlore aux usines Ste-Rose (19-39%) et Chomedey (12%) est surprenant étant donné la faible réactivité des acides aminés avec cet oxydant. Ceci pourrait s'expliquer par les éléments suivants:

1) Dans les usines étudiées, le bioxyde de chlore est produit à partir du chlorite de sodium en présence d'un excès de chlore (de moins de 10%), il y a donc du chlore dans l'eau désinfectée.

2) Avant d'atteindre la post-désinfection, l'eau ozonée séjourne dans un bassin de relèvement (usine Ste-Rose) ou dans le premier bassin du bassin de désinfection (usine Chomedey). Le temps de séjour dans le bassin de relèvement peut atteindre 30 minutes pendant lesquelles subsiste un résiduel d'ozone mesurable en hiver. La destruction des acides aminés libres par l'ozonation pourrait donc se poursuivre dans ces bassins.

2.4.7 Réseaux de distribution

Les acides aminés libres et combinés constituent probablement une source de substrat carboné pour les biomasses libres et fixées présentes dans les réseaux de distribution. Pour vérifier si les concentrations d'acides aminés présentes en fin de filière de traitement représentent une source importante de substrat, nous avons mesuré leur décroissance en fonction du temps de séjour.

Le suivi des acides aminés totaux dans les petites conduites du réseau alimenté par l'usine Ste-Rose a été réalisé en eaux chaudes. Les résultats obtenus sont présentés à la figure 2.5. La faible teneur en acides aminés totaux à la sortie de cette usine reste stable à travers le réseau, et la teneur en CODB diminue très légèrement en fonction du temps de séjour.

Les concentrations d'acides aminés totaux ont également été mesurées le long du réseau de distribution alimenté par l'usine Chomedey (figure 2.6). Ce suivi a été réalisé le 21 sepembre 1993 à cinq points d'échantillonnage situés sur des petites conduites du réseau. On note une diminution plus marquée des acides aminés totaux en fonction du temps de séjour (jusqu'à 15 heures) que dans le cas de l'usine Ste-Rose. Cette diminution s'effectue surtout après la dissipation du chlore résiduel libre qui était de < 0,1 mg Cl_2 après un temps de séjour de 4h30.

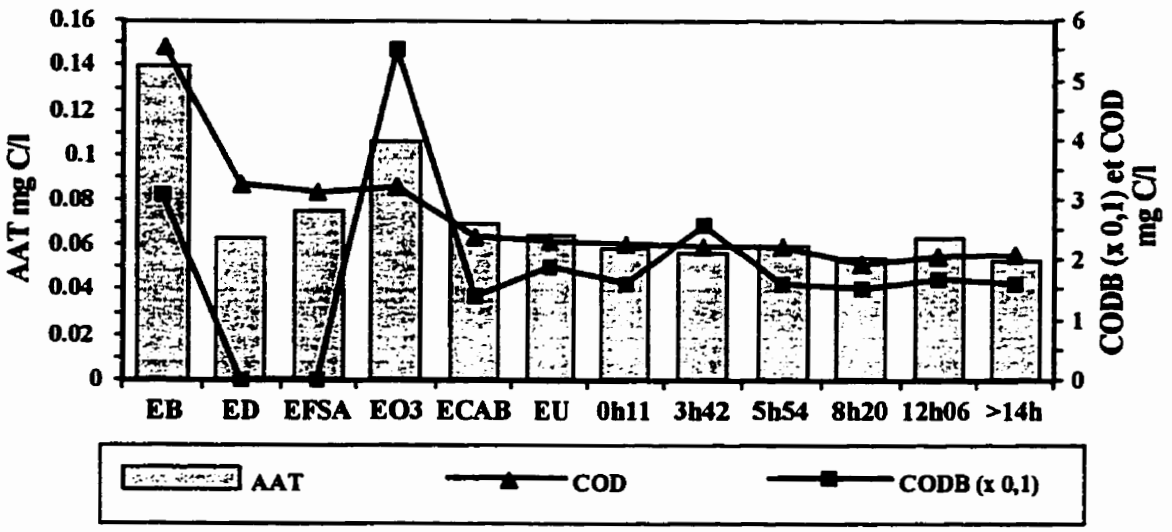


Figure 2.5: Évolution de la concentration en acides aminés totaux et du CODB dans la filière de traitement et le réseau de l'usine Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada).

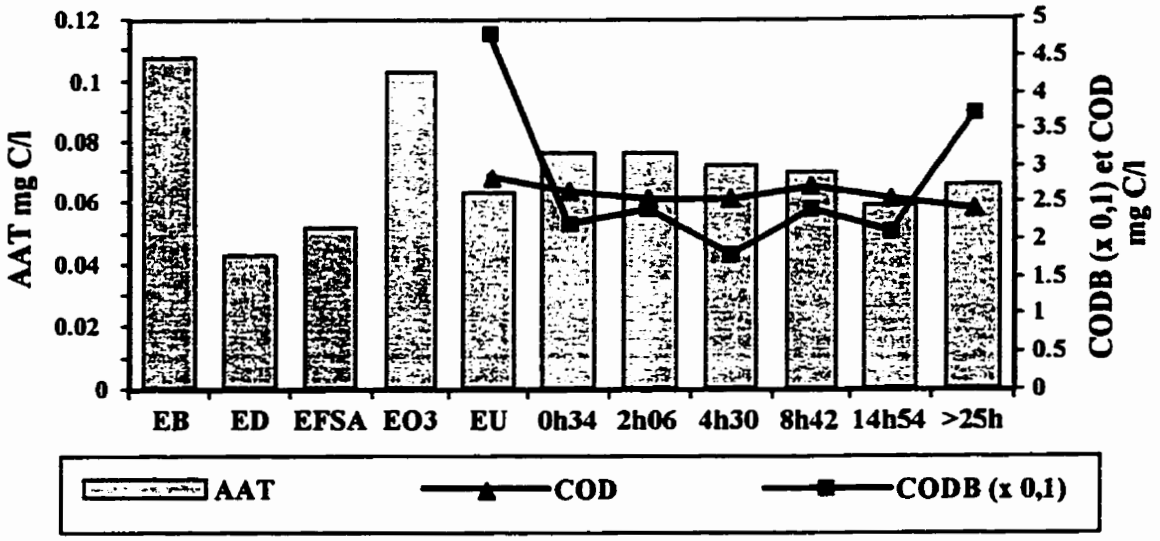


Figure 2.6 Évolution de la concentration en acides aminés totaux et du CODB dans la filière de traitement et le réseau de l'usine Chomedey (Ville de Laval, Québec, Canada).

Une faible augmentation de la concentration en acides aminés totaux entre l'effluent de l'usine et la conduite située à un court temps de séjour est observée. L'échantillonnage du réseau ayant été effectué le lendemain de celui de l'usine, cette différence reflète probablement une variation de la qualité de l'eau.

Les figures 2.5 et 2.6 montrent que la concentration en acides aminés reste relativement stable en réseau. Pourtant, Rompré (1993) a montré que les biomasses libres et fixées s'accroissent avec le temps de séjour de l'eau dans ces mêmes réseaux. Ces constatations nous mènent à formuler deux hypothèses :

1) Les acides aminés présents dans l'eau refoulée, ne seraient pas utilisés par la biomasse des réseaux étudiés, malgré le fort potentiel de recroissance des acides aminés sous forme libre. Dans ce cas, les acides aminés ayant traversé la filière de traitement seraient présents sous des formes très lentement biodégradables.

2) La croissance bactérienne, n'utiliserait qu'une faible concentration de substrats carbonés dans le réseau, ce qui mènerait à une diminution non mesurable de la teneur en acides aminés. Cette hypothèse est supportée par la faible consommation de CODB exercée dans les deux réseaux (moins de 0,1 mg C/l). La diminution de la concentration en acides aminés totaux n'est qu'une fraction de cette valeur globale.

2.4.8 Corrélation entre la teneur en acides aminés totaux et le CODB

Le suivi du CODB a été effectué en parallèle aux analyses d'acides aminés totaux dans la filière de traitement et le réseau de distribution à l'usine Ste-Rose (25.08.93) et sur le réseau de l'usine Chomedey (21.09.93). Les figures 2.5 et 2.6 illustrent les résultats obtenus pour ces deux paramètres. Une évolution similaire est observée pour ces deux paramètres le long des différentes étapes de traitement sur la filière Ste-Rose.

Suite à l'ozonation, l'augmentation de la teneur en acides aminés est de 0,030 mg C/l, alors que le CODB augmente de 0,55 mg C/l. De même la diminution du CODB dans les filtres CAB est de 0,40 mg C/l alors que l'enlèvement des acides aminés totaux est de

0,036 mg C/l. Finalement, la faible variation des acides aminés et du CODB dans les réseaux rend l'obtention d'une corrélation presque impossible. Il est peu probable qu'une corrélation valable puisse être établie entre la concentration de CODB et la concentration en acides aminés en réseau ou même en usine pour les raisons suivantes:

(1) la proportion du CODB que représentent les acides aminés varie selon la source d'eau utilisée car la composition de la matière organique naturelle de l'eau est variable. Pour une même eau brute, elle varie en fonction des saisons. L'effet du traitement sur les différents groupes de composés qui forment le pool des matières organiques biodégradables, soit les sucres, les alcools, les acides organiques et les acides aminés libres et combinés, et dans une certaine mesure, les acides fulviques et humiques, n'est pas le même. Il est probable que la proportion du CODB associée à chacune de ces classes de composés varie suite à l'effet des différents procédés de traitement appliqués.

(2) les acides aminés représentent potentiellement une fraction importante du CODB dans certains types d'eau (eaux brutes et eaux filtrées CAB des eaux étudiées) mais ne représentent qu'une petite fraction du CODB suite à d'autres étapes du traitement.

(3) Les variations en CODB et en acides aminés en réseau sont trop faibles et les niveaux de ces deux paramètres sont trop proches des limites de détections.

2.5 Conclusion

L'étape de décantation permet un enlèvement important d'acides aminés totaux (34 à 72%), l'effet de la filtration sur sable et anthracite est faible et dépend de la saison, l'ozonation provoque une augmentation (20 à 100%) et la filtration CAB permet un enlèvement en eau tiède (24 à 34%), mais relargue en eaux froide (35%). Finalement, la post-désinfection au chlore permet un enlèvement supplémentaire (47%) à cause de la réactivité de cet oxydant envers les acides aminés. La post-désinfection au bioxyde de chlore permet elle aussi un enlèvement supplémentaire (21 à 39%), malgré le fait que cet oxydant soit peu réactif vis-à-vis les acides aminés.

Les concentrations en acides aminés totaux dans les réseaux de distribution sont très faibles. Elles sont stables pour le réseau Ste-Rose et légèrement décroissantes pour le réseau Chomedey suggérant une stabilité supérieure pour l'eau traitée par filtre biologique. Nous n'avons pas trouvé de corrélation directe entre les acides aminés totaux et le CODB. Ceci peut s'expliquer par le fait que les acides aminés représentent une fraction du CODB qui varie selon la composition de l'eau et les traitements appliqués. Pour les eaux étudiés, les acides aminés totaux représentent un maximum de 40 % du CODB de l'eau brute et un maximum de 45% de l'eau à la sortie des filtres CAB. Les incertitudes sur ces valeurs sont cependant élevés, principalement à cause de la limite de détection du CODB qui s'établit à 0,1 mg C/l. De plus, il est probable qu'une partie des

acides aminés totaux soient sous des formes trop lentement biodégradable pour faire partie du CODB. Le chapitre 3, portant sur l'enlèvement des acides aminés totaux par la filtration biologique, amène des informations sur la biodégradabilité associée au paramètre acides aminés totaux.

En conclusion, les acides aminés représentent une fraction importante du CODB qui peut être enlevé efficacement par coagulation-floculation-décantation, par filtration biologique et par chloration. Il est toutefois préférable d'éliminer les acides aminés totaux avant la chloration afin de limiter la formation de sous-produits de désinfection.

CHAPITRE III : ENLÈVEMENT DES ACIDES AMINÉS, DU CARBONE ORGANIQUE BIODÉGRADABLE ET DE LA DEMANDE EN CHLORE PAR LA FILTRATION BIOLOGIQUE

3.1 Mise en contexte

Ce chapitre est sous la forme d'un article scientifique. Ce dernier a été soumis à la revue des Environmental Technology au mois de novembre 1997. Il est intitulé : Removal of Aminoacids, Biodegradable Organic Carbon and Chlorine Demand by Biological Filtration. Les auteurs sont : Carl Gauthier, Lina Hureïki et Michèle Prévost. Les chapitres 1 et 3 ont pour sujet principal la filtration biologique. Le chapitre 1 présente l'influence de l'enlèvement de matière organique biodégradable par la filtration biologique sur l'eau produite tandis que le chapitre 3 précise l'enlèvement de l'une des classes de molécules (les acides aminés) participant à cette matière organique biodégradable. Le chapitre 3 est aussi la suite directe du chapitre 2 dans lequel l'efficacité de la filtration biologique pour l'enlèvement des acides aminés a été mise en évidence de même que celles de plusieurs autres procédés de traitement.

3.2 Résumé

Cet article présente les profils d'enlèvement de carbone organique biodégradable (CODB), de demande en chlore et d'acides aminés totaux (AAT) et totaux dissous (AATD) dans un filtre biologique en eau froide (1°C). La filtration biologique a permis

l'enlèvement de 46 % des AATD (0,08 ± 0,04 mg C/l) et 24% du CODB (0,2 ● 0,1 mg C/l). Puisque le filtre étudié fonctionne en mode biologique, ces résultats suggèrent que les AATD possèdent une forte biodégradabilité. Le modèle CHABROL peut prédire l'enlèvement du CODB dans les filtres biologiques. Son utilisation nous a permis de comparer le profil d'enlèvement des AADT avec les profils d'enlèvements des trois fractions de CODB de ce modèle. La demande en chlore théorique totale associée aux AAT, calculée à partir de la demande en chlore individuelle de chaque acide aminé, a varié entre 5,6 à 6,4 mg Cl_2/mg AAT. L'enlèvement de demande en chlore associée à l'enlèvement d'AAT (0,5 ● 0,15 mg Cl_2) correspond à 34 % de l'enlèvement de la demande en chlore de l'eau après 240 heures, corrigée pour l'enlèvement de l'azote ammoniacal, ce qui est supérieur à sa participation dans l'enlèvement de COT (17%). Ces résultats reflète la forte demande en chlore associée aux acides aminés. L'enlèvement par la filtration biologique d'une fraction significative des acides aminés libres et combinés précise l'action de cette étape de traitement au niveau de l'enlèvement de substrats supportant la recroissance bactérienne ainsi qu'au niveau de l'augmentation de la stabilité du chlore résiduel en réseau de distribution.

3.3 Abstract

This paper presents removal profiles of biodegradable organic carbon (BDOC), chlorine demand, total aminoacids (TAA) and total dissolved aminoacids (TDAA) in a biological filter operated in cold water (1°C). Biological filtration achieved a 46% removal of

TDAA (0.08 ± 0.04 mg C/l) and a 24% removal of DBOC (0.2 ± 0.1 mg C/l). Since the filter studied was functioning in biological mode, these results suggest that TDAA have a higher biodegradability than the one showed by the global BDOC pool. The use of the CHABROL model, which predicts BDOC removal in biological filters, permitted comparisons of the TDAA removal profile with removal profiles associated with the three classes of BDOC distinguished by the model. Theoretical chlorine demand associated to TAA, calculated with individual aminoacid chlorine demand, varied from 5.6 to 6.4 mg Cl_2/mg TAA. The removal of chlorine demand associated to TAA removal (0.5 ± 0.15 mg Cl_2) accounted for 34% of the 240-hour water chlorine demand removal corrected to take into account the chlorine demand of ammonia. This percentage is superior to the one associated with the participation of TAA removal into the removal of TOC (17%). These results reflect the high chlorine reactivity of aminoacids toward chlorine. Removal by biological filtration of a significant fraction of TAA explains partially the increased water biological and free chlorine stability induced by this treatment process.

3.4 Extended abstract

The main objectives of biological filtration are to increase water biological stability and residual chlorine stability and to decrease water chlorination by-product formation potential (Bablon *et al.*, 1991 ; Prévost, 1991). All these objectives may be achieved in part through aminoacid removal. Aminoacids can exert a significant part of finished water chlorine demand and they are also known precursors of chlorinated by-products

(Agebekodo, 1994 ; El Morer, 1992 ; Hureïki, 1993 ; Jadas-Hécart, 1989). Finally, aminoacids are excellent substrates for bacterial growth because they are associated with very high bacterial growth yields (Connoly *et al.*, 1994).

The objectives of this study were to 1) quantify the removal of total aminoacids (TAA) and of total dissolved aminoacids (TDAA) in order to assess the global biodegradability of the compounds measured by these parameters in a drinking water environment; 2) quantify the participation of TAA into the water chlorine demand, and 3) quantify the participation of TAA removal into the chlorine demand removal induced by biological filtration.

This paper presents removal profiles of biodegradable organic carbon (BDOC), chlorine demand, TAA and TDAA in a biological filter operated in cold water (1°C). The biological filter studied is operated in a second-stage filtration at the St.-Rose treatment plant (City of Laval, Quebec, Canada). Biological filtration (inter-ozonation followed by BAC filtration) was implemented in this plant in 1984. Results presented here were obtained from a filter using (CALGON F400) microporous granular activated carbon (GAC). At the time of this study, the adsorption capacity of the filter media was completely saturated and the filter was operated in biological mode (with about 100 000 empty bed volumes filtered).

The CHABROL model was used as an analytical tool for evaluating the removal profiles of TDAA. The CHABROL model predicts BDOC consumption by the bacterial biomass colonizing GAC or sand filters (Billen *et al.*, 1992). The validity of this model at low temperatures and for various types of biological filters has been established by Laurent *et al.* (1997). This model calculates the evolution of 6 variables as a function of filter depth : S, directly assimilated BDOC; H1, rapidly biodegradable BDOC; H2, slowly biodegradable BDOC; B1, fixed biomass; B2, reversibly adsorbed biomass and B3, biomass in the interstitial water. The equations enabling the evaluation of these 6 variables take into account 12 constants whose values have been determined experimentally. The initial distribution of the BDOC in the filter affluent water must be evaluated prior to proceed with the simulations. This evaluation is realized by biomass flux analysis in batch assays (Servais *et al.* 1995b) using the HSB model (Servais, 1986).

Removal profiles show that biological filtration achieved a 46% removal of TDAA (0.08 ± 0.04 mg C/l) and a 24% removal of DBOC (0.2 ● 0.1 mg C/l). Since the filter studied was functioning in biological mode, these results suggest that TDAA have a higher biodegradability than the showed by the global BDOC pool. The use of the CHABROL model, which predicts BDOC removal in biological filters, permitted comparisons of the TDAA removal profile with removal profiles associated with the three classes of BDOC distinguished by the model.

Theoretical chlorine demand associated to TAA, calculated with individual aminoacid chlorine demand, ranged from 5.6 to 6.4 mg Cl_2/mg TAA. The removal of chlorine demand associated to TAA removal (0.5 ± 0.15 mg Cl_2)) accounted for a 34% of the 240-hour water chlorine demand removal corrected to take into account the chlorine demand of ammonia. This percentage is superior to the one associated with the participation of TAA removal into the removal of TOC (17%). These results reflect the high chlorine reactivity of aminoacids toward chlorine. Removal by biological filtration of a significant fraction of TAA explains partially the increased water biological and free chlorine stability caused by this treatment process.

3.5 Introduction

La filtration sur charbon actif granulaire (CAG) dans les installations de production d'eau potable a d'abord été mise en œuvre dans le but d'enlever par adsorption une certaine proportion de la micropollution dissoute non éliminée par les traitements physico-chimiques classiques. Les coûts associés à la régénération périodique du charbon actif sont très élevés et rendent l'utilisation du charbon actif souvent trop onéreuse en mode d'adsorption. La pratique a démontré que l'utilisation des filtres CAB peut être prolongée en adoptant le mode de fonctionnement biologique. Une fois son pouvoir adsorbant épuisé, le charbon actif agit comme milieu de support d'une flore bactérienne qui participe à l'enlèvement du COD. Cette fraction biodégradable représente le substrat

assimilable disponible pour soutenir la croissance des biomasses libres et fixées dans le réseau de distribution d'eau potable.

Selon Bablon *et al.* 1991 et Prévost 1991 les principaux objectifs de l'utilisation de la filtration biologique sont les suivants :

1) abaisser la concentration en matières organiques biodégradables en favorisant le développement à l'usine, sous contrôle de l'exploitant, d'une biomasse dans les filtres à CAB, ceci dans l'objectif de limiter la recroissance dans le réseau de distribution ;

2) augmenter la stabilité de la concentration résiduelle de chlore en sortie d'usine de façon à maintenir une concentration résiduelle de chlore dans l'ensemble du réseau de distribution, le chlore servant à limiter l'activité bactérienne;

3) limiter la concentration de sous-produits de chloration formés en post-désinfection. Cet objectif est atteint à la fois par l'enlèvement des substances organiques (CODB) et inorganiques (ammoniaque) consommatrices de chlore, et par la biotransformation ou biodégradation des précurseurs des sous-produits d'oxydation ;

4) limiter la formation de goûts et d'odeurs indésirables.

L'abattement du CODB dans les filtres CAB apporte une réduction significative de la demande en chlore à court et à long terme (Merlet *et al*, 1991 a et b ; Mitton, 1993 ; Niquette *et al.*, 1995 ; Prévost *et al.*, 1991). Cette diminution de la demande en chlore a deux sources : (1) l'enlèvement de l'ammoniaque par nitrification (2) l'enlèvement de composés biodégradables particulièrement réactifs envers le chlore. Des enlèvements modestes de COD amènent de grands enlèvements de demande en chlore à court terme puisque le CODB est plus réactif au chlore que le carbone organique réfractaire (Merlet *et al.*, 1991 a et b).

Les acides aminés totaux représentent 1 à 10 % du COD des eaux de surfaces (Berne-Dossier, 1994 ; Berne-Dossier *et al.*, 1996 ; Hureïki et al., 1996 ; Thurman, 1985 ; Volk *et al.*, 1996). La majorité de ces acides aminés se retrouvent combinés à des molécules complexes. D'ailleurs, Volk *et al.* (1996) ont montré que pour l'eau de la rivière White Clay Creek, (USA), la majorité des acides aminés sont combinés aux acides humiques. L'enlèvement des acides aminés par les filières de traitement et leur concentration dans les eaux traitées ont été étudiés par différents auteurs (Berne-Dossier *et al.*, 1996 ; Hureïki *et al.*, 1996 ; Jadas-Hécart, 1989 ; Le Cloirec *et al.*, 1984). Tous ces auteurs ont noté la présence d'acides aminés à différentes concentrations dans l'eau traitée. La part du CODB associée aux acides aminés semble variable : 4 % selon Volk *et al.* (1996), 5 à 25% selon Dossier-Berne (1994), un maximum de 40% pour Hureïki *et al.*

(1996), et près de 40 % selon Agbekodo (1994). Cette variabilité est induite par des sources d'eau brute distinctes et des méthodes d'évaluation du CODB différentes.

Parmi les molécules composant le CODB, les acides aminés comptent parmi les espèces les plus réactives avec le chlore. Libres ou combinés, ils sont de forts consommateurs de chlore et également des précurseurs importants des composés organohalogénés (Agbekodo, 1994 ; El Morer, 1992 ; Hureiki, 1993 ; Jadas-Hécart, 1989). Par ailleurs, les acides aminés libres et combinés constituent une source importante d'azote et de carbone dans les processus de croissance bactérienne (Gottschalk, 1986). Les acides aminés libres sont des substrats rapidement assimilables ayant une influence à de faibles concentrations sur la croissance de la biomasse fixée (Gauthier *et al.*, 1996). Les rendements de croissance généralement associés aux acides aminés libres dans la littérature sont très élevés (environ 0,8) dépassant ceux des alcools, des alcanes, des sucres et des acides organiques (Connoly *et al.*, 1994). Cependant les rendements de croissance associés aux acides aminés et au CODB en général en réseau de distribution (milieu oligotrophe où la biomasse mixte fixée domine) sont beaucoup plus faibles (Servais, 1986).

L'élimination des acides aminés apparaît comme une stratégie permettant à la fois de diminuer la demande en chlore de l'eau et la formation de sous-produits de chloration, et d'augmenter la stabilité microbiologique de l'eau en réseau de distribution.

Les objectifs de cette étude sont :

1) de quantifier l'enlèvement des acides aminés totaux par la filtration biologique afin d'estimer la biodégradabilité des composés mesurés par l'analyse des acides aminés totaux; 2) d'estimer la fraction de la demande en chlore de l'eau exercée par les acides aminés et 3) d'évaluer la part de l'enlèvement de demande en chlore par la filtration biologique due à un enlèvement d'acides aminés.

3.6 Matériel et méthodes

3.6.1 Description de l'usine Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada)

Cette étude a été réalisée à l'usine de traitement Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada) qui a une capacité nominale de 110 000 m^3/d et une production moyenne de 65 000 m^3/d. Les procédés de traitement de cette usine sont illustrés à la figure 3.1. L'usine Ste-Rose utilise un traitement biologique (ozone + filtration sur charbon actif - CAB) depuis 1984. L'eau brute, puisée dans la rivière des Mille-Îles, a une charge organique élevée (5 à 8 mg C/l) et une faible concentration en ammoniaque (< 150 µg/l). Sur une base annuelle, de grandes variations de température sont observées sur une base annuelle avec des températures inférieures à 1 °C pendant environ 4 mois par année, et des températures maximales atteignant 28 °C durant l'été. Deux types de charbons actifs sont utilisés dans 6 filtres et leurs performances ont été documentées (Merlet *et al.*, 1991a et 1991b ; Prévost *et al.*, 1991 et 1993). Les résultats présentés ici proviennent d'un filtre équipé avec du charbon en grain microporeux (CALGON F400). Au moment de cette

étude, le charbon actif de ce filtre était complètement saturé et fonctionnaient principalement en mode biologique (au-delà de 96 000 volumes en fût vide).

3.6.2 Procédures générales d'échantillonnage et de laboratoire

Toute la verrerie utilisée lors des expériences est préalablement lavée à l'acide chlorhydrique 6N, puis rincée à l'eau ultrapure (MilliQ UV plus System, Millipore, MA, USA). La verrerie nécessaire pour l'étape d'hydrolyse des acides aminés et les bouteilles en verre teintés utilisées pour le prélèvement des échantillons sont passées au four à 500°C pendant au moins 4 heures afin d'enlever toute trace de matière organique. Les échantillons prélevés sont rapportés au laboratoire dans les plus brefs délais dans une glacière où la température est maintenue à 4^0C. Les analyses d'acides aminés et de CODB sont réalisées la journée même de l'échantillonnage.

3.6.3 Analyse des acides aminés

Les acides aminés totaux sont mesurés par dérivation pré-colonne avec l'ortho-phtaldialdéhyde, suivie par une séparation par chromatographie liquide haute performance (CLHP, Waters, Milford, MA, USA) à l'aide d'une colonne de type C18 et d'une détection en fluorescence (λ excitation = 335 nm, λ émission = 425 nm) selon la méthode décrite par Jones (1983). Cette méthode a été optimisée par Berne-Dossier (1994). Une hydrolyse acide en phase gazeuse, d'une durée de 3 heures à 120 °C est nécessaire avant l'analyse des échantillons par CLHP. L'hydrolyse des échantillons est réalisée à l'aide de

la station Pico-Tag (Waters). Cette hydrolyse permet la mesure des acides aminés totaux (AAT) qui correspondent aux acides aminés libres et aux acides aminés combinés à différentes molécules. Les acides aminés totaux dissous (AATD) sont obtenus en filtrant les échantillons sur un filtre Sartorius (CANLAB, Toronto, Canada) en nitrate de cellulose de porosité de 0,22 µm, ce qui exclut les AAT particulaires. La calibration est réalisée avec le mélange d'acides aminés SIGMA AA-S-18, (St-Louis, MO , USA).

3.6.4 Dosage du chlore

3.6.4.1 Préparation et dosage des solutions mères de chlore

La solution mère de chlore est préparée au laboratoire par l'action de l'acide chlorhydrique sur le permanganate de potassium, le chlore libéré étant piégé dans une solution de soude à pH 13. La concentration en chlore de la solution obtenue varie entre 20 et 25 g Cl_2 l^{-1}. Le titre des solutions filles obtenues par dilution est mesuré par iodométrie (APHA, 1992) avant chaque utilisation, après que le pH soit ajusté à 9,0.

3.6.4.2 Consommation de chlore : méthode spectrophotométrique à la DPD

La chloration des échantillons d'eau est réalisée à l'aide d'une solution fille de chlore. Les échantillons sont tamponnés à pH 8,0 ± 0,1 avec un tampon phosphate de force ionique 10^{-2} M. Le taux de chlore appliqué est de 2 à 4 mg $Cl_2 l^{-1}$ de façon à obtenir un rapport mg Cl_2 ajouté / mg COT de l'ordre de 2. Les échantillons sont conservés à 20 ^{0}C et placés à l'obscurité. Un blanc est réalisé à chaque expérience par la chloration d'eau ultrapure

(MilliQ UV plus System, Millipore, MA, USA) avec une dose de chlore appliquée équivalente à celle de l'échantillon étudié. Le dosage du chlore total est réalisé par la méthode colorimétrique à la N,N diéthylphénylène-1,4 diamine (DPD), d'après la norme AFNOR T90-038-1984, tout en tenant compte des modifications apportées par Jadas-Hécart (1989). Ces modifications consistent à réduire les volumes de prélèvements et de réactifs d'un facteur de 20.

3.6.5 Mesure du carbone organique dissous et du carbone organique dissous biodégradable

Les analyses de COD et de CODB sont réalisées à l'aide d'un appareil Dohrmann DC 180 (Dohrmann Envirotech, Santa-Clara, CA, USA) par oxydation UV-persulfate après filtration des échantillons sur une membrane de 0,45 µm de porosité (Millipore, MA, USA) . La méthode suivie pour l'analyse du CODB est celle décrite par Servais *et al* (1987, 1989). L'inoculum utilisé est de l'eau brute filtrée sur une membrane d'une porosité de 2,7 µm (Millipore).

3.6.6 Modèle CHABROL

Le modèle CHABROL permet d'évaluer la consommation de CODB par la biomasse colonisant un filtre biologique ou un filtre à sable. Il a été développé et validé une première fois par Billen *et al.* (1992). La validité du modèle pour de faibles températures

et divers types de filtres biologiques a été testée par Laurent *et al.* (1997). Ce modèle évalue six variables en fonction de la profondeur d'un filtre : S, le CODB directement assimilable; H1, le CODB rapidement biodégradable; H2, le CODB lentement biodégradable; B1, la biomasse fixée sur le support; B2, la biomasse adsorbée de manière réversible sur le support et B3, la biomasse en suspension dans le liquide interstitiel. Les équations permettant l'évaluation des six variables intègrent douze constantes dont les valeurs ont été déterminées expérimentalement. La répartition initiale du CODB de l'eau à filtrer doit être évaluée avant de procéder à une simulation. Cette évaluation est réalisée par l'analyse du flux de biomasse lors d'essais en cuvée (Servais *et al.*, 1995b) avec le modèle HSB (Servais, 1986).

3.7 Résultats et discussion

Le tableau 3.1 présente les valeurs à l'affluent et à l'effluent du filtre CAB ainsi que les enlèvements réalisés pour les AAT, les AATD, le carbone organique biodégradable (COB), le CODB et la demande en chlore de l'eau. La figure 3.2 présente le profil d'enlèvement des acides aminés totaux (AAT) et des acides aminés totaux dissous (AATD) en fonction de la profondeur dans le filtre. On y observe un enlèvement sur toute la profondeur du filtre pour les AAT. Le profil d'enlèvement des AATD montre un enlèvement un peu plus marqué en surface, suggérant que les AATD correspondent à une fraction des AAT plus rapidement biodégradable que la fraction particulaire des AAT.

Les acides aminés totaux dissous représentent 5,4 % du COD à l'affluent et 3,2 % du COD suite à la filtration biologique. Ces valeurs sont cohérentes avec celles retrouvées dans la littérature pour de l'eau de rivière (1-10%) selon une compilation de Thurman (1985) ; 2% selon Volk *et al.* (1996), et pour de l'eau traitée : 2 à 7 % selon Berne-Dossier (1994) ; 1,8 à 4,3 % selon Hureiki et al. (1996).

Les acides aminés totaux dissous représentent un maximum de 21 % du CODB de l'eau ozonée et 15 % du CODB de l'eau suite à la filtration biologique. Ces valeurs sont possiblement surévaluées car la méthode de mesure du CODB utilisée peut sous-estimer le CODB comparativement à d'autres méthodes utilisant une biomasse fixée (Volk, 1994). De plus, les valeurs obtenues sont certainement surévaluées puisque tous les acides aminés combinés ne sont pas biodégradables, particulièrement ceux étant liés à des composés de masse moléculaire élevée. En effet, il a été montré lors d'une étude sur l'eau ozonée et filtrée sur CAB de l'usine Ste-Rose, que la taille des molécules a une influence sur leur biodégradabilité (Merlet *et al.*, 1991b). Selon ces auteurs, les molécules de grandes tailles (> 10000 daltons) sont très peu biodégradables, les molécules dont la taille est inférieure à 1000 daltons comptent pour plus de 50 % du CODB de l'eau, et finalement, ce sont les molécules dont la taille se situe entre 500 et 1000 daltons qui possèdent la meilleure biodégradabilité. Ceci vient expliquer pourquoi la filtration biologique n'enlève qu'une partie des acides aminés totaux. Les résultats obtenus pour les pourcentages maximaux concernant l'apport des acides aminés totaux au CODB de

l'eau (17 % pour l'eau ozonée et 10 % pour l'eau filtrée sur CAB) peuvent être comparés avec les valeurs déjà publiées : 13 % selon Volk *et al.* (1996) ; 5 à 25 % selon Berne-Dossier *et al.* (1996), 40 % selon Agbékodo (1994).

La filtration biologique a permis l'enlèvement de 46 % des acides aminés totaux dissous présents dans l'affluent tandis que l'enlèvement du CODB présent dans l'affluent est plus faible (24 %). Ceci suggère que les AATD possèdent une biodégradabilité relativement forte comparativement à celle de l'ensemble du pool de molécules biodégradables. La même tendance s'exprime pour les acides aminés totaux (53 % d'enlèvement) et le COB (39 % d'enlèvement).

Une évaluation de l'enlèvement du CODB par le filtre biologique étudié a été réalisée avec le modèle CHABROL. La répartition initiale du CODB provient de mesures réalisées par Laurent *et al.* (1997). Ces auteurs ont montré que le CODB de l'eau ozonée de l'usine Ste-Rose (Laval, Québec, Canada) en hiver (1 à 6 °C) se répartit comme suit : 8 % pour S, 46 % pour H1 et 46 % pour H2.

Le tableau 3.2 permet de comparer le profil d'enlèvement du CODB avec l'évaluation obtenue avec le modèle CHABROL pour l'enlèvement global du CODB et l'enlèvement des trois classes de CODB du modèle (S, H1 et H2). D'une manière globale, le modèle

prévoit un enlèvement de CODB de 0,30 mg C/l dans le filtre alors que l'enlèvement mesuré n'est que de 0,2 ± 0,1 mg C/l.

La figure 3.3 présente les profils d'enlèvement simulés des trois fractions de CODB du modèle CHABROL (S, H1 et H2) ainsi que le profil d'enlèvement des AATD. L'évolution des molécules rapidement assimilables (S) en fonction de la profondeur dans le filtre, (enlèvement de 63%, soit 0,06 mg C/l), reflète le bilan net de l'élimination et de la formation par hydrolyse de ces substrats. L'évolution de la teneur en S en fonction de la profondeur dans le filtre n'est donc pas un bon indicateur de la biodégradation de cette classe de CODB, puisque cette dernière est continuellement alimentée par l'hydrolyse de composés provenant de H2 et surtout de H1.

La teneur en acides aminés libres de l'eau étudiée est généralement faible et inférieure à 0,025 mg C/l, la limite de détection de la méthode. Cependant, puisque la limiter de détection de la méthode représente 30% de la teneur en S, les acides aminés libres constituent une fraction indéterminée mais inférieure à 30 % de la classe de CODB S. Toutefois, la concentration d'AATD à l'affluent du filtre (0,18 ± 0,02 mg C/l) étant supérieure à celle de la classe de CODB directement assimilable S (0,08 mg C/l), une part importante de AAT ne peux qu'être exclue de cette classe de CODB. Ce résultat n'est pas surprenant considérant qu'une part importante des AATD est liée aux substances humiques, des molécules relativement complexes.

La fraction des molécules lentement hydrolysables (H2) évolue très peu dans le filtre avec un enlèvement de 5 % (0,020 mg C/l). Puisque l'enlèvement d'AATD atteint 0,08 ± 0,04 mg C/l, la plus grande partie de l'enlèvement d'AATD provient des classe S et H1. D'ailleurs, la fraction du CODB dont l'enlèvement est le plus marqué est celle constituée des molécules rapidement hydrolysables (H1) avec un enlèvement de 61 % (0,236 mg C/l).

L'enlèvement de la demande en chlore dans les filtres CAB s'explique à la fois par l'oxydation de l'ammoniaque en nitrate par une nitrification biologique et par la biotransformation ou la biodégradation de composés réactifs au chlore. Bien que l'enlèvement de l'azote ammoniacal soit peu important dans le filtre étudié (Merlet *et al.*, 1991a), les profils d'enlèvement de la demande en chlore dans le filtre CAB ont été corrigés pour tenir compte de la demande en chlore de l'azote ammoniacal à chaque point d'échantillonnage. Une consommation de chlore théorique de l'azote ammoniacal (7,6 mg Cl_2/mg NH_4^+) a été utilisée. L'enlèvement de la demande en chlore observé à la figure 3.4 provient donc principalement de la biodégradation et de la biotransformation de composés réactifs au chlore. On y observe un profil d'enlèvement classique, c'est-à-dire un enlèvement important en surface qui diminue ensuite rapidement (Prévost *et al.*, 1993 ; Niquette *et al.*, 1995).

La demande en chlore théorique associée aux acides aminés peut être évaluée à partir des valeurs de demande en chlore retrouvées dans la littérature (Hureiki, 1993 ; El Morer, 1992). La réactivité des différents acides aminés envers le chlore est connue (entre 2,5 et 16 mg Cl_2/mg C) et cette demande en chlore totale est satisfaite en moins de 4 heures lorsque les acides aminés sont libres. Cependant, la grande majorité des acides aminés présents dans l'eau le sont sous forme combinée. Les vitesses de réaction des peptides et des protéines sont environ 100 fois moindres que pour les acides aminés libres (El Morer, 1992). Cependant, la demande en chlore totale associée aux peptides et aux protéines est similaire à la demande en chlore totale de la somme des acides aminés les constituant (Hureïki, 1993). Les demandes en chlores totales des quelques protéines étudiées se situent entre 3 et 8 mg Cl_2/mg C. Pour calculer la demande en chlore totale exercée par les acides aminés totaux, nous avons additionné les demandes en chlore ultimes associées à chaque acide aminé. Ce faisant, le ratio mg Cl_2/mg C varie en fonction des variations individuelles des acides aminés dans le filtre. Toutefois, puisque la répartition des acides aminés varie peu dans le filtre, les ratios associés à chaque profondeur varient peu (de 5,62 et 6,35 mg Cl_2/mg C). La figure 3.5 présente le profil d'enlèvement de la demande en chlore de l'eau après 240 heures et permet de le comparer aux profils d'enlèvement de demandes en chlore théoriques ultimes des AAT et des AATD calculés à partir des moyennes pondérées.

On observe que l'enlèvement de la demande en chlore théorique des AATD est plus rapide en surface du filtre tandis que l'enlèvement de la demande en chlore théorique des AAT est répartie sur toute la profondeur du filtre. L'enlèvement dans le filtre CAB de la demande en chlore théorique associée aux AAT (0,47 mg Cl_2/l) correspond à 34 % de l'enlèvement de la demande en chlore à long terme de l'eau (1,39 mg Cl_2/l) réalisée dans le filtre CAB.

La demande en chlore théorique associée aux AAT avant la filtration biologique est de 0,93 mg Cl_2/l soit 18 % de la demande en chlore 240 heures de l'affluent (5,06 mg Cl_2/l) tandis que la demande en chlore totale associée aux AAT après la filtration biologique passe à 0,37 mg Cl_2/l soit 13 % de la demande en chlore de l'eau après 240 heures (3,67 mg Cl_2/l).

La fraction de la demande en chlore de l'eau associée aux acides aminés à l'affluent du filtre biologique (18 %) est importante considérant que les acides aminés totaux ne représentent que 5,1 % du COT de l'eau. Ce pourcentage est comparable à ceux rapportés dans la littérature : pour la demande en chlore pour l'eau de la Seine (banlieue de Paris), Jadas-Hécart (1989) puis plus tard Agbekodo (1994) ont obtenu respectivement 20 à 30%, et 25 % concernant la demande en chlore associée aux acides aminés totaux pour une eau filtrée sur sable. Des différences dans la composition du COD de l'eau peuvent expliquer les variations observées.

3.8 Conclusion

Les acides aminés totaux dissous, qui représentaient 5,4 % du COD, 21 % du CODB, et 18 % de la demande en chlore à long terme de l'affluent du filtre, ont été enlevés à 46 % par le filtre biologique. Plus de la moitié des AATD n'ont pas été enlevés par la filtration biologique (de même que 76% du CODB). La faible température de l'eau ainsi que la probable association d'une part des acides aminés à des composés de grandes masses moléculaires expliquent qu'une fraction des AATD n'est pas été biodégradée dans le filtre biologique. Le pourcentage d'enlèvement de la demande en chlore à long terme de l'eau par le filtre CAB dû à l'enlèvement d'AAT (34%) est supérieur à sa participation dans l'enlèvement de COT (17%). Ces résultats reflète la forte demande en chlore associée aux acides aminés. L'enlèvement par la filtration biologique d'une fraction importante des acides aminés précise l'utilité de cette étape de traitement au niveau de l'enlèvement de substrats supportant la recroissance bactérienne et au niveau de l'augmentation de la stabilité du chlore résiduel en réseau de distribution.

3.9 Remerciements

Ce travail a été supporté par les partenaires de la Chaire Industrielle en Eau Potable : Ville de Laval, ville de Montréal, Vallée Lefebvre & associés, Groupe John Meunier-CGE. Les auteurs remercient Mme Catherine Poirier pour son aide lors des mesures de demandes en chlore.

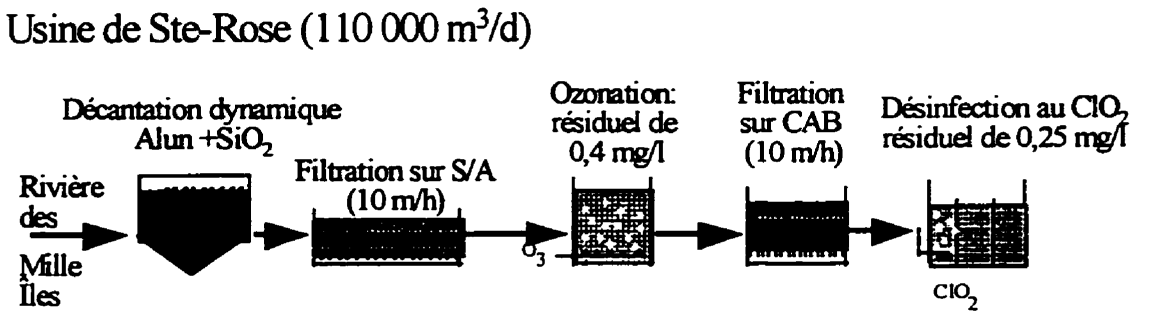


Figure 3.1 Schéma d'écoulement de l'usine de production d'eau potable Ste-Rose (Ville de Laval, Québec, Canada).

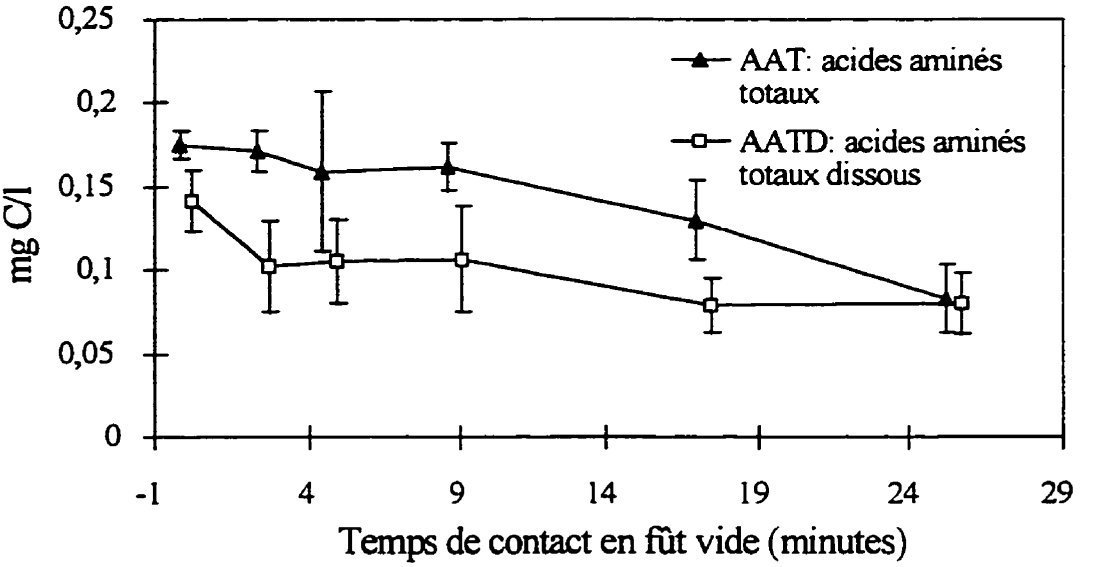


Figure 3.2 Profils d'enlèvement des acides aminés totaux (AAT) et des acides aminés totaux dissous (AATD) dans un filtre biologique.

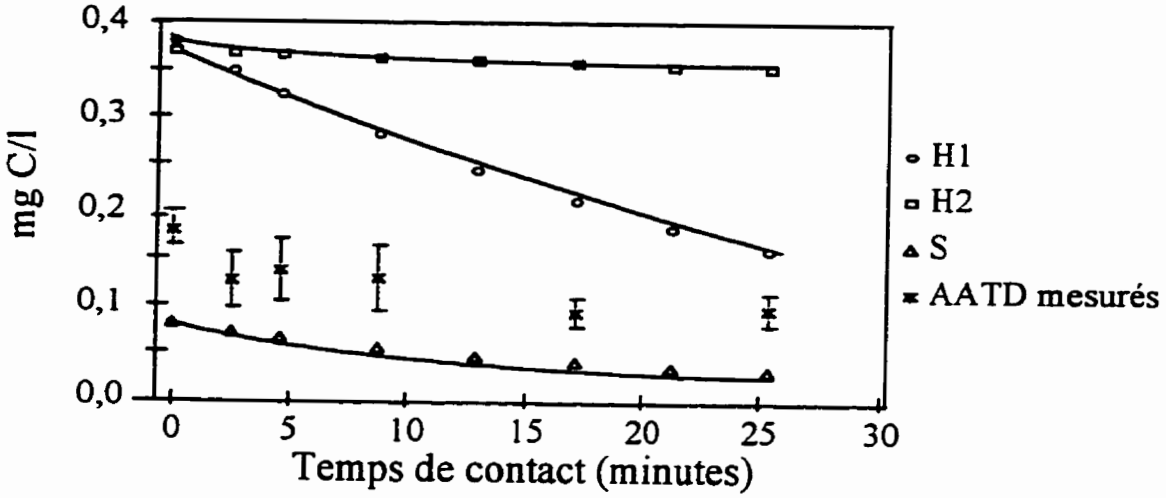


Figure 3.3 Profils d'enlèvement des trois classes de CODB (S, H1 et H2) du modèle CHABROL avec le profil d'enlèvement des AATD dans un filtre biologique.

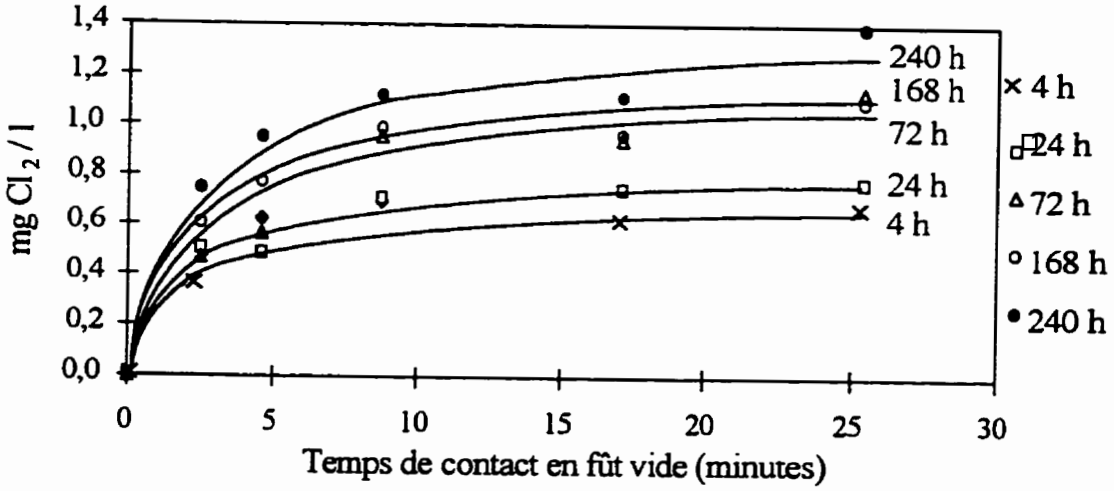


Figure 3.4 Profil d'enlèvement de la demande en chlore corrigée pour N-NH4 dans un filtre biologique.

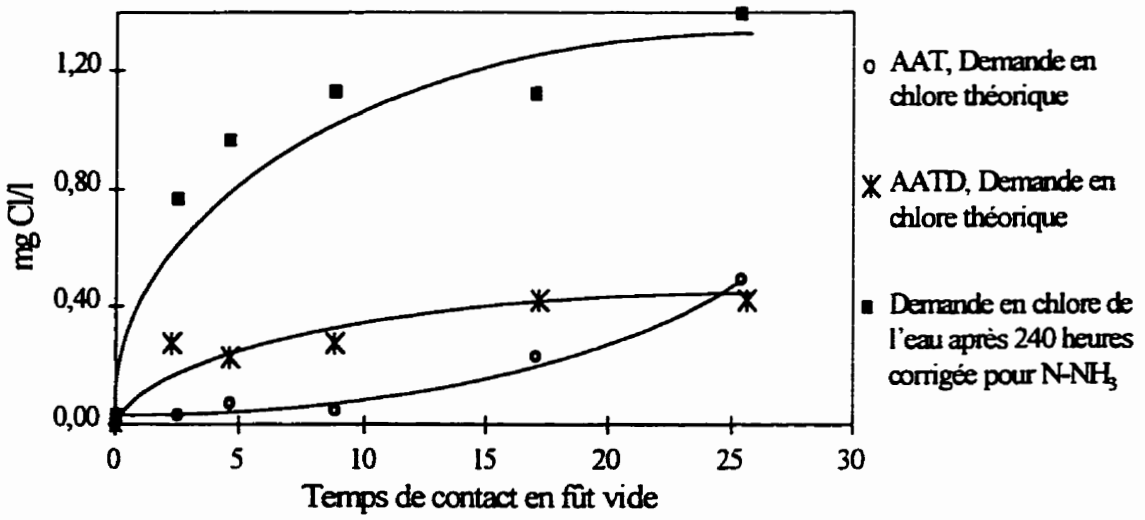


Figure 3.5 Comparaison des profils d'enlèvement de la demande en chlore de l'eau corrigée pour la demande de N-NH_4 après 240 heures avec celui de la demande en chlore théorique des acides aminés dissous (AAD) et des acides aminés totaux (AAT).

Tableau 3.1 Résumé des résultats obtenus en eau froide (< 2°C : 04.13.94) lors du suivi de la demande en chlore, du COB, du CODB, du COT, du COD, des AAT et des AATD à différentes profondeurs dans un filtre biologique.

	Affluent	**Effluent**	**Enlèvement**	**Enlèvement %**
COB (mg C/l)	0,89 ± 0,05	0,5 ± 0,1	0,35 ± 0,2	**39**
CODB (mg C/l)	0,83 ± 0,08	0,63 ± 0,05	0,2 ± 0,1	**24**
COT (mg C/l)	3,44 ± 0,05	2,9 ± 0,1	0,5 ± 0,15	**16**
COD (mg C/l)	3,28 ± 0,06	3,03 ± 0,04	0,3 ± 0,1	**8**
AAT (mg C/l)	0,175 ± 0,008	0,08 ± 0,02	0,09 ± 0,03	**53**
AATD (mg C/l)	0,18 ± 0,02	0,10 ± 0,02	0,08 ± 0,04	**46**
AAT : Demande en chlore théorique (mg Cl_2/l)	0,93 ± 0,05	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,15	**51**
Demande en chlore de l'eau après 240 heures corrigée pour N-NH_3 (mg Cl_2/l)	5,06	3,67	1,39	**27**
Enlèvement d'AAT / enlèvement de COB (%)				**26**
Enlèvement de la demande en Cl_2 AAT / enlèvement de la demande en chlore après 240 heures corrigée pour N-NH_3 (%)				**34**

Tableau 3.2 Comparaison de l'enlèvement de CODB dans un filtre biologique mesuré expérimentalement avec l'enlèvement de CODB estimé par le modèle CHABROL

	Affluent (mg C/l)	**Effluent (mg C/l)**	**Enlèvement (mg C/l)**	**Enlèvement %**
CODB mesuré	0,83 ± 0,08	0,63 ± 0,05	0,2 ± 0,1	24
CODB CHABROL	0,83	0,53	0,30	36
S CHABROL	0,08	0,03	0,06	63
H1 CHABROL	0,38	0,15	0,23	61
H2 CHABROL	0,37	0,35	0,02	5

CHAPITRE IV : INFLUENCE DU CODB ET DES ACIDES AMINÉS LIBRES SUR LA STABILITÉ MICROBIOLOGIQUE DE L'EAU POTABLE : RÉSULTATS DE SIMULATIONS AVEC DES RÉACTEURS ANNULAIRES

4.1 Mise en contexte

La biodégradabilité des acides aminés totaux a été étudiée au chapitre 2 par des suivis en réseaux de distribution d'eau potable. Cette biodégradabilité a aussi été abordée au chapitre 3, mais d'une manière indirecte à l'aide d'une analyse de l'enlèvement des acides aminés totaux par un filtre CAB fonctionnant en mode biologique. Dans le chapitre 4, c'est la biodégradabilité des acides aminés libres, un groupe de composés faisant partie des acides aminés totaux, qui est étudiée dans des conditions proches de celles retrouvées en réseau de distribution. Ce chapitre présente aussi un effort de modélisation des résultats obtenus en réacteurs annulaires avec l'analyse des résultats expérimentaux présentés au chapitre 4 mais aussi au chapitre 1.

4.2 Introduction

Des mesures globales comme le CODB (carbone organique dissous biodégradable) et le COA (carbone organique assimilable) permettent de quantifier la matière organique biodégradable. De plus, l'établissement de relations entre la recroissance bactérienne et ces paramètres globaux ont permis de suggérer des objectifs de traitement permettant de limiter la recroissance bactérienne (LeChevallier *et al.*, 1991 ; Servais *et al.*, 1992b,

1995a ; van der Kooij *et al.*, 1989 ; Volk et Joret, 1994). Ces objectifs de traitement pourraient être mieux définis grâce à une meilleure connaissance des classes de molécules formant la fraction biodégradable du COD et à une meilleure connaissance de l'influence de chacune de ces classes sur la recroissance bactérienne en réseau de distribution.

Parmi les différentes classes de molécules présentes dans l'eau potable, les acides aminés sont d'une importance particulière. Ils sont présents dans l'eau brute (Thurman, 1985) et dans l'eau traitée (Dossier-Berne, 1994 ; Hureïki, 1993 ; Le Cloirec *et al.*, 1983). Bien qu'ils ne comptent que pour 1 à 3% du COD de l'eau, les acides aminés contribuent d'une façon importante à la demande en chlore de l'eau traitée et sont reconnus comme fortement précurseurs de composés organohalogénés (El Morer, 1992 ; Hureïki, 1993 ; Jadas-Hécart, 1989). Mais surtout, les acides aminés sont considérés comme d'excellents substrats bactériens ; les plus forts rendements de croissance des principales classes de molécules organiques leur sont associés (Connoly, 1994). Cependant, l'importance de leur contribution dans le pool de matière organique biodégradable de l'eau potable est variable et dépend de la source d'eau brute et de l'efficacité des traitements appliqués (Volk *et al.*, 1996).

Il est difficile de faire ressortir l'effet du CODB et des acides aminés sur la recroissance bactérienne dans un réseau de distribution d'eau potable. Le problème a été simplifié en utilisant des réacteurs annulaires. Ces derniers permettent de simuler au laboratoire les

conditions qui prévalent dans les conduites d'un réseau de distribution d'eau potable. De tels réacteurs peuvent être utilisés pour étudier, dans des conditions contrôlées, l'influence de différents composés, dont les acides aminés, sur la stabilité microbiologique de l'eau potable.

Nous présentons ici les résultats d'essais en réacteurs annulaires qui avaient pour objectifs de déterminer l'effet de petites quantités d'acides aminés sur la croissance des biomasses libres et fixées. Dans ce but, nous avons utilisé un montage de quatre réacteurs annulaires en polycarbonate installés au laboratoire de la Chaire Industrielle en Eau Potable de l'École Polytechnique de Montréal. Le deuxième objectif de notre étude était de vérifier s'il est possible d'appliquer un modèle prédictif aux données expérimentales obtenues en réacteurs annulaires.

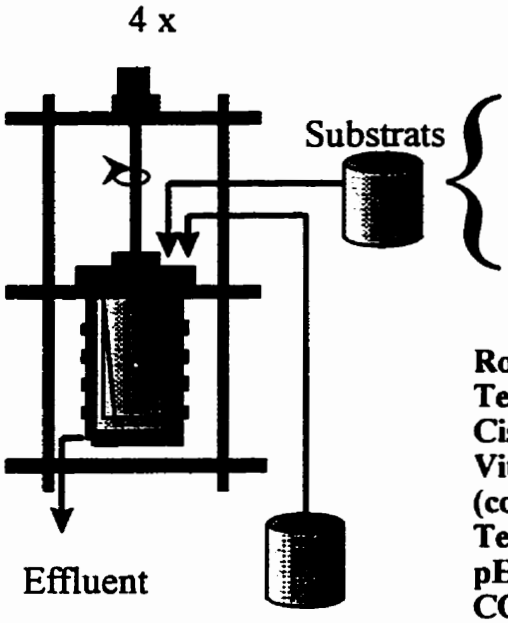
4.3 Matériel et méthodes

4.3.1 Montage de réacteurs annulaires

Les réacteurs annulaires ont été commercialisés par Characklis et Roe, (1984), (US patent 4,485,450, 27 nov. 1984), et par le Center for Biofilm Engineering du Montana State University. Ce réacteur permet un écoulement de type complètement mélangé (Davies, 1994). Plusieurs compositions de coupons et de lamelles peuvent être utilisées. Nous avons utilisé des cylindres externes de fonte grise équipés de 96 coupons permettant l'échantillonnage du biofilm ou encore des cylindres externes de

polycarbonate comprenant 48 coupons et 12 lamelles. Le cylindre interne est entraîné sur son axe par un moteur, ce qui permet d'assurer un parfait mélange et de simuler les conditions hydrauliques que doit subir un biofilm à la surface interne d'une conduite dans un réseau de distribution.

La figure 4.1 montre le montage de réacteurs annulaires ainsi que les principaux paramètres de fonctionnement. Les quatre réacteurs ont été alimentés avec l'eau du robinet de la Ville de Montréal enrichie de 0,1 mg C/l de glucose. Les deux réacteurs qui ne recevaient pas d'acides aminés ont été nommés réacteurs Aas-. Les deux autres réacteurs ont reçu respectivement 0,1 mg C/l (réacteur Aas+) et 0,2 mg C/l (réacteur Aas++) d'un mélange de 19 acides aminés libres. Le temps de séjour de l'eau dans les réacteurs a été fixé à 8 heures et la température a varié de 20 à 22°C. L'autre montage de réacteurs annulaires, utilisé à l'usine Ste-Rose, a été décrit en détails au chapitre 1 (figure 1.3).



Réacteur	Acides aminés	Glucose
Aas-	sans addition	0,1 mg C/l
Aas-	sans addition	0,1 mg C/l
Aas+	0,1 mg C/l	0,1 mg C/l
Aas++	0,2 mg C/l	0,1 mg C/l

Rotation du cylindre interne	30 RPM
Temps de séjour de l'eau	7,8 heures
Cisaillement	0,65 N/m
Vitesse équivalente (conduite de 6 pouces)	0,14 m/s
Temperature	22-24 C
pH	7,2
CODB de l'eau du robinet	0,25 mg C/l

Figure 4.1 Montage de réacteurs annulaires utilisé pour quantifier l'effet de l'ajout d'acides aminés libres sur la stabilité microbiologique d'une eau potable.

4.3.2 Analyse des acides aminés

Les acides aminés libres ont été mesurés par dérivation pré-colonne avec l'ortho-phtaldialdéhyde, suivie par une séparation par chromatographie liquide haute performance (CLHP, Waters, Milford, MA, USA) à l'aide d'une colonne de type C18 et d'une détection en fluorescence (λ excitation = 335 ηm, λ émission = 425 ηm) selon la méthode décrite par Jones (1983). La calibration a été réalisée avec le mélange d'acides aminés SIGMA AA-S-18, (St-Louis, MO, USA).

4.3.3 Mesure du carbone organique dissous et du carbone organique dissous biodégradable

Les analyses de COD et de CODB ont été réalisées à l'aide d'un appareil Dorhman DC 180 par oxydation UV-persulfate après filtration des échantillons sur une membrane de 0,45 µm de porosité (Millipore, MA, USA). La méthode suivie pour l'analyse du CODB est celle décrite par Servais *et al* (1987, 1989). L'inoculum utilisé est de l'eau brute filtrée sur une membrane d'une porosité de 2,7 µm (Millipore, MA, USA).

4.3.4 Mesure de l'activité exoprotéolytique

La densité du biofilm dans les réacteurs annulaires a été évaluée par la méthode de l'activité exoprotéolytique potentielle (AEP) (Somville et Billen, 1983; Laurent et Servais, 1995). Pour chaque mesure d'AEP, deux coupons sont retirés d'un réacteur. Chaque coupon est ensuite placé dans un mini-incubateur et submergé dans 2 ml d'eau d'alimentation du réacteur préalablement filtrée à travers un filtre d'une porosité de 0,2 µm. Lors de l'analyse, 50 ml d'une solution de L-leucyl-ß-Napthylamide (L-L-ßN) 34 mM est ajouté aux incubateurs, ce qui assure un excès de substrat. Des échantillons de surnageant sont ensuite prélevés à toutes les 10 minutes afin d'en mesurer la fluorescence causée par l'apparition de ß-naphtylamine suite à l'hydrolyse du substrat de départ par l'action des exo-enzymes bactériens. La fluorescence est mesurée par un fluorimètre Waters (pompe 600E, échantillonneur 717+ et détecteur 470) à une longueur d'onde d'excitation de 340 nm et une longueur d'onde d'émission de 410 nm. Lors de chaque série d'analyses, le fluorimètre est calibré avec une série de standards de ß-naphtylamine allant de 0,25 à 1 mM. La production de ß-naphtylamine suit une augmentation linéaire de fluorescence en fonction du temps. Cette relation linéaire est transformée en une activité exoprotéolytique exprimée comme une production molaire de ßN par unité de temps par cm^2 de biofilm. La densité de la biomasse fixée est alors estimée en g C/cm^2 à l'aide de la relation expérimentale de 6,54 µgC/(nmole ßN/minute) (Billen, 1991).

4.3.5 Bactéries libres

Les bactéries libres ont été mesurées par microscopie en épifluorescence après coloration à l'acridine orangé tel que décrit Hobbie *et al.* (1977). Immédiatement après l'échantillonnage, les échantillons sont fixées avec un ajout de formaldéhyde à une concentration finale de 2% (vol/vol). Après dilutions, les suspensions sont ensuite filtrées sur un filtre de polycarbonate noir Nuclepore de 25 mm de diamètre (porosité de 0,22 µm) et colorées 2 minutes avec 1 ml d'une solution d'acridine orangé 0,01% (masse/vol). Deux lamelles sont ensuite réalisées pour chaque échantillon et dix champs microscopiques sont comptés pour chaque lamelle (Rompré, 1993).

4.3.6 Modèle MERLIN

Le modèle MERLIN permet de relier l'évolution de la biomasse libre, de la biomasse fixée et de la teneur en CODB dans un réacteur annulaire. Il est basé sur les mêmes les mêmes principes que le modèle SANCHO. Ce dernier a été validé avec succès pour de nombreux réseaux de distribution (Laurent *et al.*, 1997 ; Servais *et al.*, 1995c). Rappelons que le modèle SANCHO simule un réseau de distribution en le décomposant en petites sections de canalisations dans lesquelles l'eau est considérée complètement mélangée. Ces sections sont principalement définies par le temps de séjour de l'eau et le diamètre de la conduite. Le modèle MERLIN permet de simuler un réacteur annulaire,

car ce dernier peut être considéré comme une seule section de canalisation complètement mélangée, de 1,6 cm de diamètre. Le modèle SANCHO calcule l'évolution de 6 variables en fonction du temps de séjour tandis que le modèle MERLIN les calcule pour un seul temps de séjour : S (CODB directement assimilable), H1 (CODB rapidement biodégradable), H2 (CODB lentement biodégradable), B1 (biomasse fixée), B2 (biomasse adsorbée de manière réversible), B3 (biomasse en suspension). Les équations permettant l'évaluation des 6 constantes intègrent 12 constantes dont les valeurs ont été déterminées expérimentalement (Laurent *et al.*, 1997 ; Servais *et al.*, 1995c). La répartition initiale du CODB (S, H1 et H2) de l'eau refoulée dans le réseau doit être évaluée avant de procéder à une simulation. Cette évaluation est réalisée par l'analyse du flux de biomasse lors d'essais en cuvée (Servais *et al.*, 1995b) par le modèle HSB (Servais, 1986).

4.4 Résultats

L'application du modèle MERLIN à un réacteur annulaire constitue un cas d'application particulier du modèle SANCHO. Nous avons entrepris d'appliquer le modèle MERLIN sur deux séries de données : 1) les résultats expérimentaux décrit au chapitre 1 et obtenus à partir de réacteurs annulaires de fonte grise alimentés par des eaux d'usine ozonées ou filtrées sur CAB et exploités à température et à flux de substrats variables et 2) les données expérimentales présentées au tableau 4.2 qui constituent un cas

relativement simple, puisque le flux de substrats et la température d'exploitation y sont constants et le matériau non sujet à la corrosion.

4.4.1 Modélisation de résultats expérimentaux provenant des réacteurs de fonte de l'usine Ste-Rose, (Ville de Laval, Québec, Canada)

L'objectif de cette section était de vérifier l'applicabilité du modèle MERLIN à l'analyse de résultats obtenus en réacteurs annulaires de fonte grise exploités en usine. Rappelons que lors de cette étude, 4 réacteurs annulaires de fonte ont été alimentés avec de l'eau ozonée relativement riche en CODB (0,9 ± 0,5 mg C/l) et 4 autres réacteurs ont été alimentés avec de l'eau filtrée sur CAB plus pauvre en CODB (0,5 ± 0,5 mg C/l). Les réacteurs ont été alimentés en série de deux afin de simuler des temps de séjour de 1 heure et de 14 heures, soit 15 heures de temps de séjour cumulatif pour chaque série de deux réacteurs (figure 1.3).

Les résultats expérimentaux sont comparés aux résultats des simulations réalisées par le modèle MERLIN. Les répartitions de CODB suivantes ont été utilisées : eau ozonée (S : 8 %, H1 : 35 %, H2 : 57 %) ; eau filtrée sur CAB (S : 15 %, H1 : 42,5 %, H2 : 42,5 %). Le tableau 4.1 résume les résultats expérimentaux et permet de les comparer aux simulations réalisées avec le modèle MERLIN.

Tableau 4.1 Comparaisons entre les simulations MERLIN et les résultats expérimentaux de biomasse fixée et de consommation de CODB dans les réacteurs annulaires de fonte alimentées avec de l'eau filtrée CAB et de l'eau ozonée.

Réacteurs	Simulations MERLIN		Résultats expérimentaux	
	Biomasse fixée (mg C/cm^2)	CODB consommé (mg C/l)	Biomasse fixée (mg C/cm^2)	CODB consommé (mg C/l)
CAB-1h	1,39	0,26	0,33 ± 0,1	0,07 ± 0,3
O_3-1h	1,80	0,40	0,76 ± 0,2	0,33 ± 0,4
CAB-14h	0,13	0,23	1,05 ± 0,3	0,18 ± 0,2
O_3-14h	0,14	0,25	1,02 ± 0,2	0,27 ± 0,2

Le tableau 4.1 montre que les densités de biomasse fixée mesurées dans les réacteurs CAB-1h (0,33 ± 0,1 mg C/cm^2) et O_3-1h (0,76 ± 0,2 mg C/cm^2) sont plus faibles que les densités obtenues avec les simulations MERLIN (1,39 mg C/l et 1,80 mg C/l) pour ces réacteurs. Les consommations de CODB mesurées dans les réacteurs CAB-1h (0,07 ± 0,3 mg C/l) et O3-1h (0,33 ± 0,4 mg C/l) sont elles aussi plus faibles que les consommations de CODB suggérées par les simulations (0,26 mg C/l et 0,40 mg C/l). Cependant, les écarts-types élevés des mesures expérimentales de consommation de CODB ne permettent pas une estimation précise des écarts entre les valeurs expérimentales et les valeurs simulées.

Étant donné les écarts importants existant entre les résultats des simulations et les valeurs expérimentales pour les réacteurs 1h, les valeurs expérimentales à l'effluent des réacteurs

1h ont été préférées aux valeurs fournies par les simulations pour servir de conditions de départ pour les simulations des réacteurs 14h. Cette fois, les densités de biomasse fixée mesurées dans les réacteurs CAB-14h (1,05 ± 0,3 mg C/cm^2) et O_3-14h (1,02 ● 0,2 ± 0,2 mg C/cm^2) sont plus fortes que les densités obtenues avec les simulations MERLIN (0,13 mg C/cm^2 et 0,14 mg C/cm^2) pour ces réacteurs. Cependant, les consommations de CODB mesurées pour les réacteurs 14h correspondent assez bien aux valeurs obtenues par les simulations.

Il est difficile d'expliquer pourquoi les densités de biomasse fixée sont supérieures aux densités obtenues par les simulations dans le cas des réacteurs 1h et inférieures à ces dernières dans le cas des réacteurs 14h. Quoi qu'il en soit, les différences entre les valeurs expérimentales et simulées observés dans ce cas particulier sont reliées d'une quelconque façon à l'emploi de réacteurs annulaires. En effet, le modèle SANCHO, la version du modèle MERLIN utilisée en réseau de distribution, fonctionne très bien aussi bien à court qu'à long temps de séjour (Laurent *et al.*, 1997). Il est possible que les phénomènes d'attachement dans les réacteurs annulaires soient affectés par le fort ratio surface/volume et que cela influence la densité de biomasse fixée à l'équilibre en fonction du temps de séjour de l'eau.

4.4.2 Réacteurs de polycarbonate : biodégradabilité des acides aminés libres

Les objectifs de cette section étaient 1) d'étudier l'effet de petites concentrations d'acides aminés libres sur la stabilité microbiologique de l'eau potable et 2) de fournir des résultats expérimentaux permettant de vérifier l'applicabilité du modèle MERLIN à l'analyse de résultats provenant de réacteurs annulaires de polycarbonate.

4.4.2.1 Résultats expérimentaux

Le montage de réacteurs utilisé est décrit à la section 4.3.1 (figure 4.1). Les réacteurs ont atteint un équilibre pour la densité de biomasse fixée et pour la biomasse libre après une centaine de jours d'opération. La figure 4.2 présente l'évolution de la biomasse fixée telle que mesurée à l'aide de la méthode de l'activité exoprotéolitique.

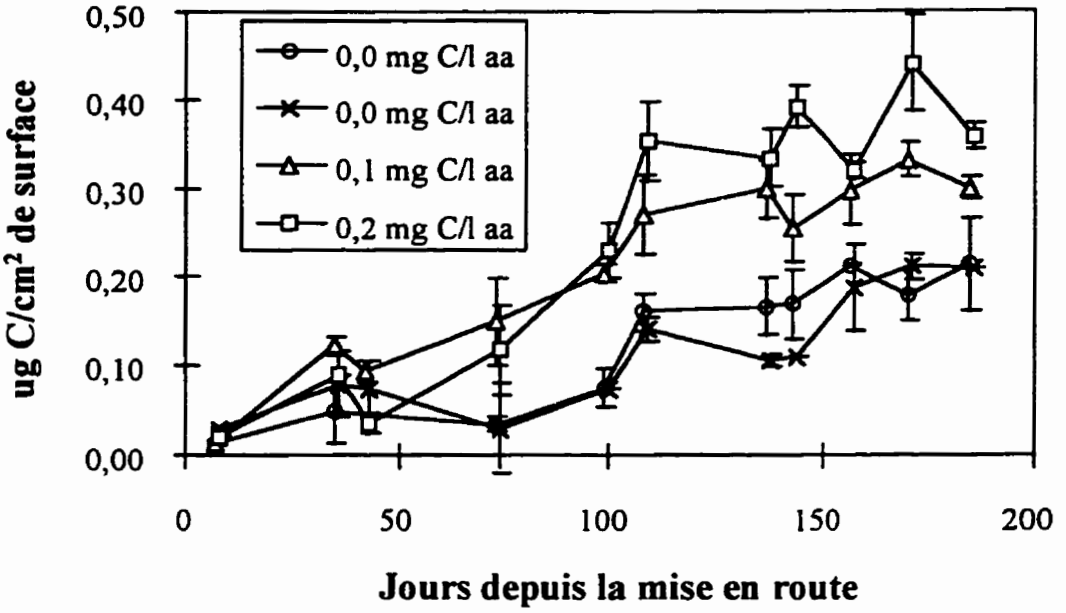


Figure 4.2 Évolution de la biomasse fixée dans les réacteurs annulaires en fonction de l'alimentation en acides aminés.

La figure 4.2 montre clairement l'influence de l'enrichissement en acides aminés sur la densité de biomasse fixée dans les réacteurs à l'équilibre (0,17 ± 0,04 µg C/cm^2 pour les réacteurs Aas-, 0,29 ± 0,03 µgC/cm^2 pour le réacteur Aas+ et finalement 0,37 ± 0,04 µgC/cm^2 pour le réacteur Aas++). Le suivi à l'équilibre de la biomasse libre à l'entrée et à la sortie de chacun des réacteurs, tel que réalisé par dénombrement direct par microscopie en épifluorescence, montre une exportation moyenne de 3,9 ± 1,5*10^5 bactéries/ml pour chacun des réacteurs (tableau 4.2). Aucune tendance reliée à l'alimentation n'a été observée. Cependant, les bactéries à l'effluent des réacteurs enrichis en acides aminés avaient un plus grand biovolume que celles provenant des

réacteurs Aas-. Avec un plus grand biovolume, l'exportation bactérienne en termes de carbone peut augmenter considérablement pour un nombre équivalent de bactéries.

Les consommations de COD et d'acides aminés libres à l'équilibre dans les réacteurs à l'équilibre sont présentées respectivement aux figures 4.3 et 4. On observe à la figure 4.3 que les différences de 0,1 mg C/l entre les valeurs de COD dans l'alimentation des réacteurs Aas++ et Aas+ ainsi que pour les réacteurs Aas+ et Aas- correspondent aux ajouts d'acides aminés (0,1 mg C/l). Cette figure montre aussi que la différence de COD dans l'alimentation n'est pas reflétée à l'effluent des réacteurs. Cela suggère que la différence d'abattement de COD entre les réacteurs correspond à l'abattement des acides aminés ajoutés et donc que les acides aminés ajoutés aux réacteurs y sont complètement consommés.

Tableau 4.2 Résumé des résultats obtenus pendant la période de d'équilibre.

	Aas++ (0,2 mg C/l)	Aas+ (0,1 mg C/l)	Aas- (0,0 mg C/l)
Biom. fixée (µg C/cm²)	0,37 ± 0,04	0,29 ± 0,03	0,17 ± 0,04
Biom. libre (log/ml)	Entrées (moyenne): 5,4 ± 0,2 Sorties (moyenne): 5,8 ± 0,1		
Cons. COD (mg C/l)	0,42 ± 0,13	0,34 ± 0,09	0,17 ± 0,07
Cons. Aas (mg C/l)	0,135 ± 0,01	0,069 ± 0,03	0,004 ± 0,004

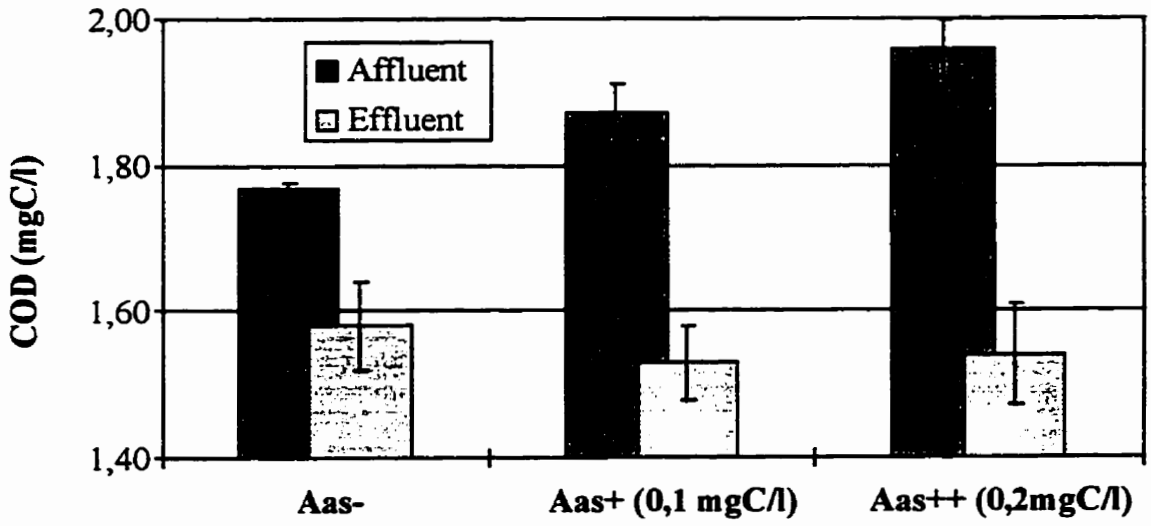


Figure 4.3 Consommation de COD dans les réacteurs à l'équilibre.

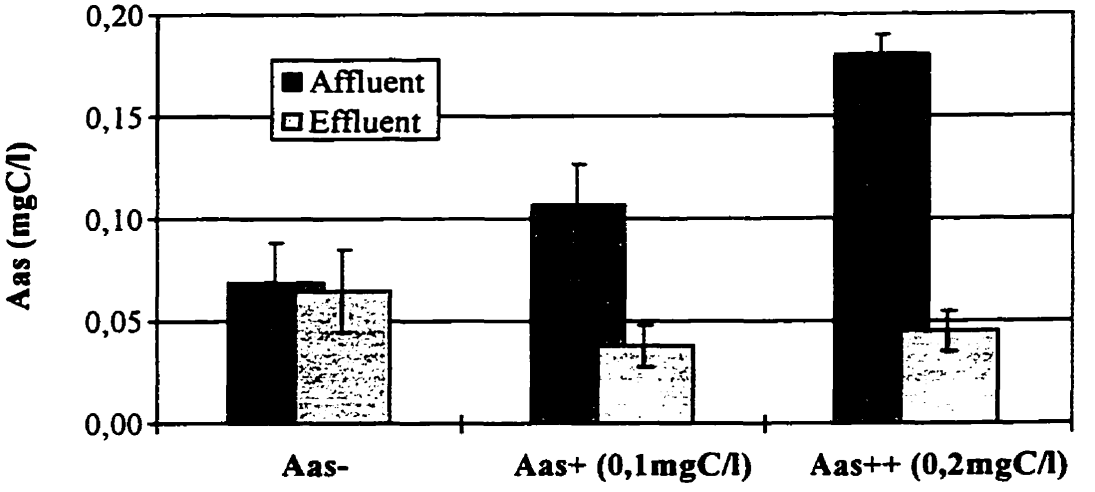


Figure 4.4 Consommation de 14 acides aminés libres par les réacteurs à l'équilibre.

La figure 4.4 confirme que les acides aminés libres ajoutés sont consommés dans les réacteurs. Comme pour le COD (figure 4.3), les différences de concentrations d'acides aminés observées dans l'alimentation (figure 4.4) correspondent aux ajouts d'acides aminés. Plus précisément, la figure 4.4 montre que les 14 acides aminés analysés sont bien enlevés (14 des 19 acides aminés ajoutés ont été analysés, soit 67% des acides aminés exprimés en mg de carbone par litre). La consommation d'acides aminés libres dans le réacteur Aas++ (0,14 ± 0,01 mg C/l) pour 14 acides aminés correspond à 105 % de l'ajout de ces 14 acides aminés. La consommation d'acides aminés libres dans le réacteur Aas+ (0,07 ± 0,03 mg C/l), encore pour 14 acides aminés, correspond à 103 % de l'ajout pour ces 14 acides aminés. Finalement, la consommation d'acides aminés libres dans les deux réacteurs dont l'alimentation n'est pas enrichie en acides aminés est

négligeable probablement à cause de la faible concentration d'acides aminés libres dans l'eau du robinet utilisée (moins de 0,06 mg C/l).

4.4.2.2 Modélisation des résultats expérimentaux obtenus en laboratoire

Les résultats présentés au tableau 4.2 ont été utilisés pour les simulations avec le modèle MERLIN. La répartition initiale du CODB utilisée pour les simulations est la suivante : 3 % pour S, 73 % pour H1 et 24 % pour H2. La valeur de CODB utilisée pour l'eau du robinet, 0,25 mg C/l, correspond à une estimation de la valeur moyenne de CODB pour l'eau du réseau de Montréal durant l'été 1994 (Jutras, 1995). Puisque le tiers de l'eau d'alimentation des réacteurs était constituée d'eau déminéralisée contenant l'ajout de substrat, l'apport en CODB provenant de l'eau du robinet équivaut au deux tiers de la valeur totale soit 0,17 mg C/l. Lors des simulations, l'ajout de glucose (constant à 0,1 mg C/l) ainsi que les ajouts d'acides aminés libres (0,1 et 0,2 mg C/l) ont été considérés comme faisant partie de la classe de CODB (S) qui regroupe les petits substrats directement assimilables. Le temps de séjour de l'eau dans les réacteurs (8 heures) a été pris en compte lors des simulations.

Les paramètres microbiologiques du modèle MERLIN ont été fixés à des valeurs comprises dans les fourchettes de valeurs utilisées en eau potable pour le modèle SANCHO (Laurent *et al.* 1997). Notamment, la constante de mortalité globale (Kd) a été fixée à 0,015 h^{-1} et le rendement de croissance apparent global (Y) à 0,15.

Le tableau 4.3 résume les résultats des simulations MERLIN. Ces résultats sont comparés aux résultats expérimentaux à la figure 4.5. Cette figure montre que l'évaluation par le modèle MERLIN de la consommation de COD dans les réacteurs est cohérente avec les résultats expérimentaux (Consommation de COD MERLIN = 0,9008 consommation de COD expérimentale - 0,0059 mg C/l ; avec r^2 = 0,9707). Cette excellente concordance entre les résultats expérimentaux et les simulations suggère que le modèle MERLIN explique correctement l'effet d'un ajout d'acides aminés sur l'enlèvement du COD.

Tableau 4.3 Densités de biomasse fixée et consommations de COD à l'équilibre suggérées par le modèle MERLIN pour les essais avec différentes doses d'acides aminés.

Ajout d'acides aminés	**Aas++ 0,2 mg C/l**	**Aas+ 0,1 mg C/l**	**Aas- 0,0 mg C/l**
Biomasse fixée (µg C/cm²)	0,23	0,17	0,10
Consommation de COD (mg C/l)	0,38	0,28	0,17

Cependant, la figure 4.5 révèle que les densité de biomasse fixée mesurées dans les réacteurs sont supérieures aux densités obtenues par les simulations : (Biomasse fixée MERLIN = 0,6017 biomasse fixée expérimentale - 0,0022 µg C/cm²). Ces résultats ne sont pas surprenants puisque les densités de biomasse fixée mesurées dans les réacteurs annulaires à l'équilibre sont généralement supérieures à celles mesurées en réseau de

distribution ou même en réseaux de distribution pilote (Camper *et al.*, 1995a). En effet, puisque le modèle SANCHO (et donc le modèle MERLIN) ont été validés à partir de densités de biomasse fixée mesurées en réseau de distribution, il est cohérent que les densités de biomasse fixée obtenues par les modélisations soient inférieures aux valeurs expérimentales.

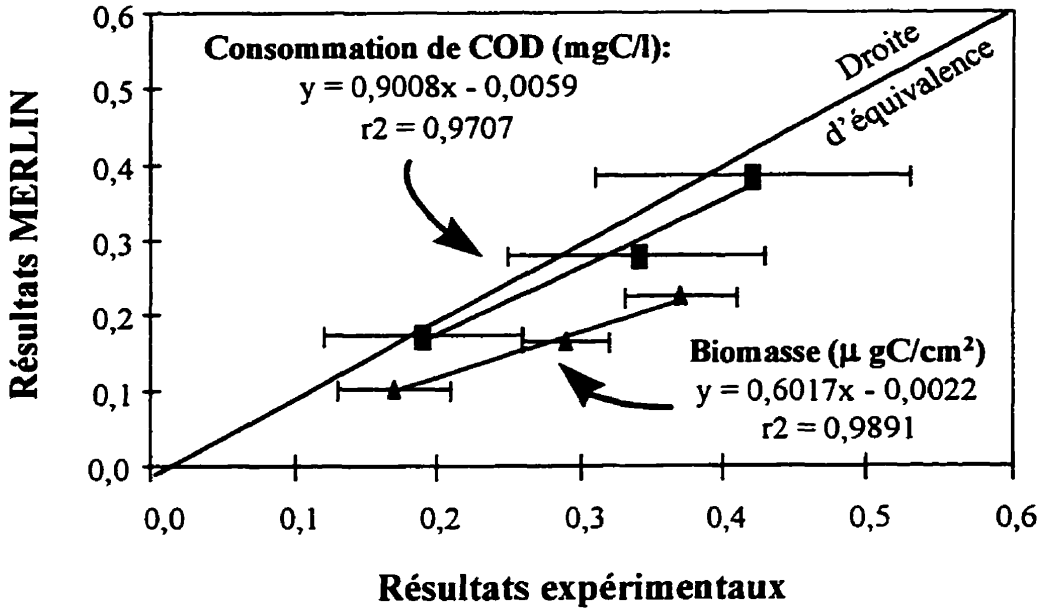


Figure 4.5 Corrélations entre les valeurs calculées par le modèle MERLIN et les valeurs expérimentales pour la biomasse fixée et la consommation de COD à l'équilibre.

D'autre part, un rendement de croissance apparent global réel supérieur au rendement de croissance apparent global utilisé dans le modèle (0,15) pourrait aussi expliquer des densités de biomasse fixée mesurées supérieures aux densités de biomasse fixée résultant des simulations. En effet, plus le rendement de croissance apparent est fort, moins la

densité de biomasse à l'équilibre est élevée pour une consommation de substrat donnée. Cependant, le rendement de croissance apparent global utilisé dans le modèle MERLIN (0,15) est identique à celui utilisé avec succès dans le modèle SANCHO pour simuler la recroissance en réseau de distribution.

D'autre part, une compilation réalisée par Connoly *et al.* (1994) indique que de toutes les classes de molécules biodégradables, les acides aminés permettent les rendements de croissance les plus élevés (de l'ordre de 0,8). Si, dans les conditions de notre essai, le rendement de croissance apparent pour les acides aminés s'avérait beaucoup plus élevé que 0,15, le rendement de croissance apparent global augmenterait avec l'augmentation de la teneur en acides aminées. Ceci causerait une augmentation des écarts entre les résultats expérimentaux et les simulations MERLIN. La figure 4.5 montre que l'écart le plus faible (39%) est bien obtenu pour les deux réacteurs dont les alimentations n'ont pas fait l'objet d'un enrichissement en acides aminés. Les écarts entre les résultats expérimentaux et les simulations sont plus élevés pour les réacteurs AAS+ et AAS++ (51 % et 46 % respectivement), suggérant que les acides aminés ajoutés ont augmenté légèrement le rendement apparent global de consommation de substrats dans les réacteurs.

Il faut cependant mentionner que les rendements de croissance relativement élevés suggérés par Connoly et al (1994) sont supérieurs aux valeurs obtenues

expérimentalement en milieu oligotrophe : 0,3 (Lucas *et al.*, 1981), 0,3 (Servais, 1986), et 0,15 (Bell et Kuparinen, 1984). Cela est d'autant plus vrai en pour les réacteurs annulaires possédant des ratios surface sur volume est très élevés (2,6 cm^{-1} pour les réacteurs de fonte et 1,9 cm^{-1} pour les réacteurs de polycarbonate). De tels ratios font que la biomasse fixée détermine en grande partie le rendement de croissance apparent dans un réacteur annulaire. Une quantité importante du substrat est utilisée par la biomasse fixée pour produire des exopolymères. Ces derniers comptent pour 50 à 90% de la masse sèche de la biomasse fixée (Characklis *et al*, 1989). La production d'exopolymères par la biomasse fixée réduit le rendement de croissance car celui-ci correspond au ratio de la quantité de biomasse cellulaire produite par la quantité de substrats consommés. C'est d'ailleurs pourquoi la validation du modèle SANCHO avec des résultats expérimentaux en réseau de distribution a été réalisé avec un Y relativement faible de 0,15 pour tenir compte de la prédominance de la biomasse fixée tel que recommandé par Servais *et al.* (1995c).

4.5 Conclusion

Ces travaux auront permis de quantifier l'effet des acides aminés sur la croissance bactérienne supportée par l'eau potable. Ces composés ont stimulé significativement la croissance de biomasse fixée à une concentration aussi faible que 0,1 mg C/l. L'analyse des simulations réalisées avec le modèle MERLIN a confirmée la forte biodégradabilité des acides aminés libres dans l'eau potable. Cependant, dans le cas particulier d'un autre

essai en réacteurs annulaires alimentés avec de l'eau provenant de l'usine Ste-Rose (Vile de Laval, Québec, Canada), les résultats expérimentaux ont montrés des différences importantes avec les résultats des simulations, principalement au niveau des densités de biomasse fixée.

La modélisation de d'autres essais en réacteurs annulaires avec le modèle MERLIN est souhaitable car elles permettrait de préciser la correspondance entre les simulations MERLIN et les résultats obtenus en réacteurs annulaires. Une telle correspondance est importante, à tout le moins au niveau des tendances observées, car elle confirmerait que les réacteurs annulaires représentent des modèles valables permettant de simuler le devenir de l'eau en réseau de distribution puisque les réacteurs seraient alors décrit correctement par un modèle calibré sur des résultats provenant de réseaux de distribution.

CHAPITRE V : IMPACT DE LA CHLORATION SUR LA DEMANDE EN CHLORE ET LA TENEUR EN ACIDES AMINÉS D'UN BIOFILM D'EAU POTABLE

5.1 Mise en contexte

Ce chapitre est sous la forme d'un article scientifique. Ce dernier a été soumis à la revue Water Research en décembre 1997. Il est intitulé : Impact of Chlorination on the Chlorine Demand and Aminoacid Content of a Drinking Water Biofilm. Les auteurs sont : Carl Gauthier, Michèle Prévost Annie Rompré, Cristina Soïca, Nicole Merlet et Bernard Legube. Dans le premier chapitre de cette thèse, l'influence du matériau de support et surtout de la présence de dépôts de corrosion sur la résistance de la biomasse fixée face à la désinfection a été étudiée. Le chapitre 5 présente des résultats illustrant l'importance de la structure même du biofilm dans la résistance à la désinfection de la biomasse fixée, ce qui vient compléter le thème de la résistance à la désinfection abordé dans cette thèse.

5.2 Abstract

Polycarbonate annular reactors were used to demonstrate the reactivity of chlorine with a drinking water biofilm. After 48 hours of sufficient chlorination to ensure a residual chlorination of about 0.5 mg Cl_2/l in the reactor, the 4-hour chlorine demand of the biofilm was reduced by 56%. Measurements reveal that 84% of the total aminoacids in

the biofilm were oxidized by chlorine in less than 6 hours. The total aminoacids represent about 2% of the total organic carbon (TOC) of the biofilm and 17% of the chlorine demand of the biofilm. This is because of their strong reactivity with this oxidant. Our results suggest that other compounds, as yet unidentified, could be responsible for most of the chlorine demand of the biofilm. Finally, the 4-hour chlorine demand of a biofilm suspension ($6.3*10^{-3} \pm 0.1*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2) was found to be 2.5 times greater than the chlorine demand of a biofilm that had not been detached from its support media ($2.56*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2). These results suggest that the structure of the biofilm offers some protection against attack by chlorine, since certain reactive sites in the biofilm appear to remain relatively sheltered from chlorination. This holds true for a period of 4 hours at an initial chlorination rate of 5 mg/l and at a final chlorination rate higher than 2.5 mg Cl_2/l.

5.3 Introduction

The bacteria colonizing a drinking water biofilm have greater resistance to disinfection by chlorine than free bacteria. This is confirmed by higher CT values measured for fixed bacteria (Griebe *et al.*, 1994; LeChevallier *et al.*, 1988, 1990; van der Wende, 1991).

New analytical techniques, such as confocal laser scanning microscopy (CLSM), associated with various fluorescent probes and microelectrodes (for chlorine and dissolved oxygen) make it possible to characterize the 3-dimensional structure of the biofilm (Caldwell *et al.*, 1992). Disinfection resistance mechanisms probably involve a

diffusion barrier due to the presence of a polysaccharide matrix surrounding the bacteria (Costerton *et al.*, 1987; Herson *et al.*, 1987). More precisely, the polysaccharide matrix envelops microcolonies rather than individual bacteria (Anwar *et al.*, 1990). Using microelectrodes, De Beer *et al.* (1994) have observed chlorine and oxygen gradients within a biofilm subjected to chlorination. They also have shown that, in some areas, active microcolonies remain active since they have not been exposed to high concentrations of chlorine. These active microcolonies are surrounded by areas which have been exposed to chlorine and have reduced bacterial activity. Moreover, Brown *et al.* (1995) have shown, when they were studying the resistance of biofilms to disinfection using iodine, that there is no significant difference between the iodine demand exerted by a biofilm and that exerted by an equivalent amount of free biomass (equivalent quantity of exopolymers). This suggests that the resistance to disinfection by iodine is not related to its reactivity with exopolymers, but rather to a passive diffusion barrier originating in the structural organization of the biofilm. However, De Beer *et al.* (1994) have suggested that the diffusion barrier can not alone explain the resistance to disinfection by chlorine. Reduction of the oxidant in the biofilm is required to explain the evolution of the chlorine gradient within the biofilm. Finally, Chen *et al.* (1996) have proposed a model which integrates both a diffusion resistance to chlorine penetration and reduction of the oxidant by biofilm compounds in order to explain the experimental results on the penetration of chlorine in an artificial *Pseudomonas aeroginosa* biofilm.

The general objective of this study was to evaluate the chlorine demand of a biofilm and to highlight the important role of the biofilm structure and composition in the resistance to disinfection by chlorine. First, the chlorine demand, as well as the total aminoacid content of a drinking water biofilm, were evaluated after periods of chlorination of different contact time with chlorine in an annular reactor. The interest of monitoring aminoacids in biofilm rises from the fact that aminoacids are highly reactive to chlorine (Hureïki *et al.*, 1994). The chlorine demands were measured for biofilms on their polycarbonate supports. Monitoring these parameters provides information on the cumulative effect of oxidation of the biofilm by chlorine after increasing periods of contact. To distinguish the chlorine demand exerted by the support material from that exerted by the biofilm and its structural organization, chlorine demands were measured : 1) on biofilm suspensions after they had been removed from the support material and ; 2) on the support material itself (polycarbonate).

5.4 Equipment and methods

5.4.1 Total organic carbon

Total organic carbon (TOC) was measured by means of a Dohrmann 180 Total Carbon Analyzer (Dohrmann Envirotech, Santa Clara, CA, USA) using persulphate/U.V. oxidation followed by a non dispersive infrared detection of CO_2.

5.4.2 Total aminoacids

Total aminoacids were measured by high-performance liquid chromatography (HPLC). A pre-column derivitization (automated) with orthophtaldialdehyde was first performed, followed by a separation of derivatives using a type C18 column and a detection with a spectrofluorometer (excitation λ = 335 ηm, emission λ = 425 ηm). This method was proposed by Jones *et al.* (1983) and optimized by Berne-Dossier (1994). Calibration is carried out with the SIGMA AA-S-18 mixture of aminoacids (St. Louis, MA, USA). An acid hydrolysis (HCl 6N, SIGMA) of the samples, in the gaseous phase for a period of 3 hours at 120°C, was carried out prior to HPLC analysis measurement of total aminoacids (free and combined). A Waters Pico-Tag station (Milford, MA, USA) was used for the sample hydrolyses

5.4.3 Chlorine demand

The chlorination of the biofilm in suspension was carried out at room temperature and at a pH of 7.4 following the addition of a phosphate buffer. The bottles and tubes used for the experiment were pretreated with chlorine solutions (100 mg/l) to minimize their chlorine demand. The chlorination of the polycarbonate slides is carried out in glass tubes long enough to completely immerse them in less than 70 ml. The chlorine concentrations were measured by the colorimetric method using diethyl-p-phenylene diamine sulphate (DPD), (APHA, 1992), modified by Jadas-Hécard (1992).

5.4.4 Total bacteria counts

The total counts of free bacteria were determined by epifluorescence microscopy in the liquid phase and in extracts of suspended biofilm after acridine orange staining according to Hobbie *et al.* (1977). Immediately after sampling, bacteria were fixed with the addition of formaldehyde at a final concentration of 2% (vol/vol). After dilution, the suspensions were filtered on a black 25-mm-diameter Nuclepore polycarbonate filter with a porosity of 0.22 µm (Fisher, Ottawa, Canada) and stained for 2 minutes with 1 ml of a 0.01% solution of orange acridine (mass/vol). Two slides were prepared for each sample and each slide was divided into ten microscopic fields (Rompré, 1993). For suspended biofilm extracts, the bacteria were dispersed by means of a common food mixer prior to the staining procedure.

5.4.5 Annular reactor

Annular reactors consist of an internal rotating cylinder placed inside a stationary external cylinder. On the inner wall of the external cylinder, 48 coupons and 12 polycarbonate slides are inserted which permit sampling of the biofilm. The internal cylinder, rotates on its axis by means of a motor. It ensures a water motion simulating the hydraulic conditions to which a biofilm is subjected at the internal surface of a distribution pipe. A nearly perfect mixture is ensured by eccentric recirculation tunnels located within the internal cylinder. The internal volume of the reactor is 757 ml and its total internal surface area is 1947 cm^2. Two annular reactor setups were used: one was in

the Laboratoire de Chime de l'Eau et des Nuisances of the Université of Poitiers (experiment 1), and the second in the laboratory of the Industrial Chair on Drinking Water at the Ecole Polytechnique de Montreal (experiment 2). The first assembly was made up of two reactors and the second of only one. Figure 5.1 summarizes the characteristics and the feed conditions of these two assemblies.

For the first experiment, reactors A1 and A2 were fed with drinking water from the distribution system of the City of Poitiers (France). This water was enriched with a nutrient solution composed of yeast extract, glucose and galactose. The total contribution to affluent water substrate concentration by the nutrient solution was 0.6 mg C/l (0.3 mg C/l of yeast extract, 0.2 mg C/l of glucose and 0.1 mg C/l of galactose). With this enrichment, the mean TOC value at the inflow of the reactors was 1.2 ± 0.15 mg C/l, the DOC contribution of the tap water being about 0.5 mg C/l. The BDOC content of the dilution water (tap water) was under the detection limit of the method (< 0.05 mg C/l). The hydraulic residence times in reactors A1 and A2 were 4 hours, for a total flow rate of 3 ml/min.

5.4.6 Chlorine demand of the reactors prior to seeding

Prior to their start-up, the reactors and slides were cleaned through contact with a 10% solution of nitric acid solution for two hours, and then with a 100 mg Cl_2/l solution for three days. After abundant rinsing with ultra-pure water, the chlorine demand of the two

reactors conditioned in this way was evaluated. Both reactors were filled with a 6.5 mg Cl_2/l solution made with ultra-pure water and operated in batch mode. Figure 5.2 shows the evolution of the free chlorine demand of the preconditioned reactors as a function of contact time compared with batch chlorine consumption by ultra-pure water. After 24 hours, the mean consumption of chorine by the walls of the reactors reached 0.76 ± 0.2 mg Cl_2 per reactor, which is $3.89*10^{-4}$ mg Cl_2/cm^2 of polycarbonate.

5.4.7 Seeding the reactors

The two reactors were seeded over a period of 90 days by feeding with tap water enriched with the nutrient solution described in figure 5.1. After fifty days of seeding, export of the free biomass stabilized at around $3*10^6$ bacteria per ml, which suggests that a pseudo-equilibrium had been achieved (Servais *et al.*, 1992d)

5.4.8 Chlorinating the reactors

A dose of 1.5 mg Cl_2/l was applied to the feed water in one of the reactors, with the objective of obtaining a residual concentration at the outflow of the reactor of 0.2 to 0.4 mg Cl_2/l after 4 hours of contact in the reactor.

The chlorine solution used for the chlorination phase had a concentration of 100 mg Cl_2/l, measured by iodometric titration (APHA, 1992). This solution was prepared from a concentrated solution of sodium hypochlorite of 152 g/l (Labosi). The rate of

chlorination of the reactor (1.5 mg Cl_2/l) was adjusted by changing the flow from the peristaltic pump supplying the disinfectant solution.

The slides to be sampled were removed through openings provided for this purpose on the upper wall of the reactors. Two slides were removed from the chlorinated reactor and from the non-chlorinated reactor at each sampling period. Each slide was rinsed on both faces several times with ultra-pure water. A 4-hour chlorine demand analysis was carried out on one of the two slides in a glass tube. Each slide has two faces: one on which the biofilm is attached, and which is exposed to the water in the reactor ; and the other which is exposed to the internal wall of the external cylinder. The exposed surface of the second slide was scraped using a knife sterilized in a flame and the resulting detached biofilm was re-suspended in 50 ml of ultra-pure water. Part of this suspension was used for the total counts of bacteria measured by epifluorescence microscopy and another part of the suspension was concentrated by a factor of 5 through freeze-drying. The concentrated samples were then used for total aminoacid analyses.

For the second experiment, a polycarbonate annular reactor was fed with drinking water from the distribution system of the City of Montreal (Quebec, Canada). This water was enriched with a nutrient solution composed of yeast extract, to ensure an enrichment in the reactor of 1.0 mg C/l of DOC. The contribution of the tap water in terms of organic

matter was about 2.2 mg C/l of DOC, which brought the concentration of the enriched water to about 3.2 mg C/l. Reactor B was fed from the top, and the hydraulic residence time in this reactor was 5 hours. The procedure for sampling the slides was the same as for the first experiment.

5.5 Results

5.5.1 Reactor chlorination

Figure 5.3 shows the evolution of the residual chlorine at the outflow of reactor A1 as a function of the time after the onset of chlorination. After only 24 hours of chlorination, the free residual chlorine concentration reached more than 0.5 mg Cl_2/l in reactor A1, and the rate of chlorination was therefore reduced to 1.25 mg Cl_2/l. The continued presence of combined chlorine, in spite of the excess of free chlorine and sustained chlorination, suggests that the chloramines present (0.1 to 0.2 mg/l of Cl_2) were organic chloramines resulting in part from the reaction of the chlorine with the components of the yeast extract.

Figure 5.4 shows the evolution of the total bacteria counts following the start of chlorination. The values prior to start-up represent the mean of the four weekly samplings preceding the start of chlorination in reactor A2. A reduction of 54% was observed in the number of free bacteria in the chlorinated reactor relative to the level

prior to chlorination, while the level of free bacteria in the non-chlorinated reactor remained stable.

Figure 5.5 presents the evolution of the counts of total bacteria fixed on the polycarbonate slides as a function of time following start-up of chlorination. Also observed here is the action of the chlorine, which translates into a rapid lowering of the total counts of fixed bacteria (75%), followed by a stabilization of this number to a lower level after 24 hours after the start of chlorination.

The impact of sustained chlorination on the reactivity of the biofilm with chlorine can be evaluated by measuring the reactivity of the biofilm after the start of chlorination in reactor B1. The 4-hour chlorine demands of the whole slides (intact biofilm), sampled after different reactor chlorination times, are presented in figure 5.6. The chlorine demand of the slides diminished progressively from an initial value of $3.3 \pm 0.2*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2 of surface area to a value of $1.44 \pm 0.5*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2 of surface area after 48 hours of reactor chlorination. This figure suggests that the consumption of chlorine took place in two phases: one phase of rapid consumption of 4 to 6 hours in duration, followed by another, slower, consumption phase. The diminution in reactivity with chlorine is explained by the progressive depletion of reactive sites available on the surface of the slides.

Chlorine reactivity should also be related to bacterial densities. The consumption of chlorine by bacteria (10^9 bacteria) did not undergo the same reduction, remaining relatively stable at 0.33 ± 0.13 mg $Cl_2/10^9$ fixed bacteria. The relative stability of the unit chlorine demand is an indication that, for a given biofilm, the chlorine demand is related to the density of the fixed biomass. However, other sources of reactive sites, like the various substances adsorbed at the surface of the material, the matrix of exopolymers and, to a lesser degree, the polycarbonate support media, also add to the chlorine demand exerted directly by the fixed biomass.

Aminoacids and proteins are high consumers of chlorine: from 1.3 to 17.7 mg Cl_2/mg C for aminoacids and from 3 to 8 mg Cl_2/mg C for the proteins studied (Hureïki *et al.*, 1994). The effect of chlorination on the total aminoacid content in the biofilm has been measured with the aim of showing that this class of compounds contributes significantly to the total chlorine demand of the biofilm. Figure 5.7 shows the evolution of the aminoacid content in the biofilm as a function of time of chlorination in reactor A1. This figure shows that the aminoacids and the proteins contained in the biofilm seemed to be rapidly altered by the chlorine present in the reactor. The mean total aminoacid content of the 3 biofilm suspensions that have not undergone chlorination in the reactor (reactor B1, non-chlorinated, time 0 and 48 hours; and reactor A1 prior to the start of chlorination) was $8*10^{-5} \pm 3*10^{-5}$mg C/cm^2. The mean of the measurements taken from the biofilm suspensions that have undergone chlorination in reactor A1 (4, 6, 24 and 48

hours after the start of chlorination) was much lower: $1.3*10^{-5} \pm 0.7*10^{-5}$ mg C/cm^2, which represented a reduction of 84%. This reduction occurred rapidely after the start of chlorination, even more rapidly than the reduction in the bacterial density in the biofilm.

The rapid disappearance of the total aminoacids after only 4 hours of chlorination is at first glance surprising, considering the literature on the chlorine demand of aminoacids and proteins (Hureïki, 1993; El Morer, 1992). In fact, although the long-term chlorine demand of proteins is generally similar to that of the sum of their aminoacids individual chlorine demands, the kinetics of the reaction are much slower. The chlorine demand of free aminoacids is generally satisfied in a few hours, while several hours may be required to obtain the same result with proteins and peptides. The rapid disappearance of total aminoacids from the biofilm may also be the result of a partial reaction of the chlorine with the aminoacids, rendering them undetectable by the HPLC method used to quantify aminoacids.

The TOC measurements carried out on biofilm suspensions did not show any notable reduction in the TOC content as a function of the reactor chlorination time. The mean value observed is $4.2*10^{-3} \pm 1.3*10^{-3}$ mg C/cm^2. The stability of the TOC in the biofilm excludes the possibility that a substantial detachment of the fixed biomass could have occurred during the period of chlorination. The total aminoacids prior to the start of chlorination (0.08 ± 0.03 mg C/cm^2) represented only 2% of the mean TOC in the

biofilm (4.2 ± 0.03 mg C/cm^2). This proportion was low, but not incompatible with the literature on the composition of a biofilm. In fact, according to Sutherland (1983), biofilm is composed of more than 90% exopolymers and, for activated sludges, Horan and Eccles (1986) suggest that these exopolymers are composed of 65% sugars. Ford *et al.* (1991) estimate that the protein content of exopolymers in an aquatic medium corresponds, at most, to 10 to 15% of the dry mass. Finally, according to Sperandio and Püchner (1993), the dry mass of bacteria consists of 30% (in activated sludges) to 80% (in pure strains of E. *coli*) protein, with a mean value of 50% for different cultures of bacteria. All these percentages must be considered to be approximate because the cellular physiology of bacteria can vary a great deal as a function of the strain and of environmental conditions (Lazarova and Manam, 1994), but they suggest that overall aminoacid content of a biofilm can be quite low.

The low percentage of TOC that the total aminoacids represented could explain why the destruction of total aminoacids observed did not affect the TOC measurements. In addition, the analytical bias that exists with the detection of the aminoacids partially oxidized by the chlorine does not apply the TOC measurements. In effect, an aminoacid which has reacted with a chlorine molecule remains detectable by the TOC measurement method, to the extent that the carbon atoms composing this aminoacid are still present.

A theoretical calculation of the potential consumption of chlorine by the aminoacids contained in biofilm suspensions made it possible to estimate the degree to which the aminoacids contributed to the total chlorine demand of the biofilm. To calculate the chlorine demand exerted by the total aminoacids, the chlorine demands associated with each aminoacid (Hureïki, 1993) were weighted as a function of the content of each individual aminoacid and added together. The mean reactivity of the aminoacids for each measurement lies between 6.1 and 9.9 mg Cl_2/mg C, with a mean reactivity of 6.4 mg Cl_2/mg C for all the measurements. Based on these calculations, the maximal reduction in the 4-hour chlorine demand associated with the reaction of total aminoacids in the biofilm corresponded to $4.5*10^{-4}$ mg Cl_2/cm^2, which was 24% of the reduction in the total 4-hour chlorine demand ($1.9*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2). This proportion may be lower since it is possible that the potential chlorine demand of the total aminoacids removed, calculated on the basis of HPLC measurements, continued to be exerted after the 4-hour period. The maximal portion of the 4-hour chlorine demand associated with the total aminoacids moved from 17% for slides which have not undergone chlorination in a reactor to 8% for slides chlorinated in a reactor. The reduction in the percentage of the chlorine demand associated with total aminoacids suggests that these compounds are particularly reactive to the chlorine in the biofilm. However, these percentages reveal that other compounds exert an important influence on the chlorine demand in this drinking water biofilm (more than 80% in the case of a biofilm which has not undergone

chlorination, and more than 90% in the case of a biofilm which has undergone chlorination in a reactor).

5.5.2 Chlorine demands of biofilm suspensions and of whole slides (intact biofilm)

The contribution of the back faces of the slides when estimating chlorine demands constitutes an important methodological question which must be studied in order to correctly analyze the results obtained. There could be impurities, or even some biofilm, on the back faces, which would falsify the chlorine demand results. Another issue, a much more fundamental one, is to establish whether or not a detached biofilm suspension has the same chlorine demand as the same quantity of biofilm still attached to the slide.

Reactor B (see figure 5.1) was colonized for 6 months with City of Montreal tap water, enriched with 1 mg C/l of yeast extract. Various types of chlorine demands were carried out on the 12 slides from this reactor. The biomass fixed on the slides of reactor B prior to testing was $2.4 \pm 0.4 * 10^7$ bacteria/cm^2.

The results of these chlorine demands are presented in figures 5.8 and 5.9. Those given in figure 5.8 are the chlorine demands of biofilm suspensions (first full extraction), the biofilm residue suspensions (second and third full extractions carried out successively on one slide) and, finally, the chlorine demands of suspensions of what was fixed on the back faces of the slides. Figure 5.9 presents the chlorine demands for whole slides

(measurement of the chlorine demand of the intact biofilm), and for slides scraped on the biofilm bearing face (after biofilm extraction) and on both faces.

From figure 5.8, it is possible to state that, on average, the detachment protocol of the biofilm by scraping enables recuperation of almost 75% of the chlorine demand of the biofilm recuperated after three successive full extractions. This operation is highly reproducible, as shown by the error bars. It would be possible to increase the recuperation percentage of the detachment protocol simply by using a larger volume of water, but the dilution of the biofilm suspension would cause a reduction in the sensitivity of chlorine demand measurements.

Figure 5.8 also shows that the mean of the chlorine demands of biofilm suspensions taken from the back face ($1.3*10^{-3} \pm 0.3*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2) was much smaller than the mean of the chlorine demands of suspensions scraped from the exposed face supporting the biofilm ($6.3*10^{-3} \pm 0.1$ mg Cl_2/cm^2). The low chlorine demand of the biofilm on the back face is also illustrated in Figure 5.9 by the fact that there was very little difference between the mean of the chlorine demands of the slides from which the biofilm has been removed on the exposed face ($2.6*10^{-3} \pm 0.4$ mg Cl_2/cm^2) and that of the slides from which the biofilm has been scraped on the two faces ($2.8*10^{-3} \pm 0.4*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2). These results enable us to suggest that there is little accumulation of biofilm or of

adsorbed compounds that are consumers of chlorine on the non-exposed face of the slides.

The chlorine demand of the intact biofilm without the contribution of the slide ($4.35*10^{-3} \pm 0.1*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2) is shown on figure 5.9 by the fact that there was very little difference between the mean of the chlorine demands of the slides from which the biofilm has been removed on the exposed face ($2.6*10^{-3} \pm 0.4$ mg Cl_2/cm^2) and that of the slides from which the biofilm has been scraped on the two faces ($2.8*10^{-3} \pm 0.4*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2). These results enable us to suggest that there is little accumulation of adsorbed compounds that are consumers of chlorine on the non-exposed face of the slides.

The chlorine demand of the intact biofilm without the contribution of the slide ($4.35*10^{-3} \pm 0.1*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2) is shown on figure 5.9. It is obtained by subtracting the mean chlorine demand of the slides whose biofilm on the exposed face has been extracted three times ($1.80*10^{-3} \pm 0.15*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2) from the mean chlorine demand of whole slides with intact biofilm. In this way, the chlorine demand exerted by the back face is eliminated, and only the chlorine demand associated with the intact biofilm of the exposed face is kept ($2.56*10^{-3} \pm 0.25$ mg Cl_2/cm^2). Also, by using the mean chlorine demand of the slides on which 3 successive biofilm extractions have been performed, we minimize the bias induced by the detachment protocol. The most important information to be derived from the value obtained is clearly that the mean 4-hour chlorine demand of

a biofilm suspension ($6.3*10^{-3} \pm 0.1*10^{-3}$ mg Cl_2/cm^2) is 2.5 times greater than that of an intact biofilm ($2.56*10^{-3} \pm 0.25$ mg Cl_2/cm^2). This illustrates the protection that the structure of the biofilm confers on the chlorine-consuming compounds in the biofilm.

5.6 Discussion

Two theories have been advanced to explain the low disinfectant penetration in a biofilm (Brown *et al.*, 1995). The first suggests a reaction between the disinfectant and the matrix of the biofilm, while the second proposes instead the existence of a diffusion barrier due to the presence of this extracellular matrix. De Beer *et al.* (1994), combining chlorine microelectrodes and direct microscopic observations, have suggested that diffusion alone cannot explain the slow penetration of chlorine into the biofilm. According to these authors, in the conditions studied (biofilm of 150-200 μm), and with the hypothesis of a simple diffusion barrier, the concentration of chlorine in the biofilm should reach the concentration of chlorine in the surrounding liquid in less than 2 minutes. Since these authors have observed a chlorine concentration within the biofilm which is a great deal lower than that of water, and this concentration was observed after 2 hours of contact time, they concluded that the reactivity of the biofilm with the chlorine plays a major role in the relative resistance of the biofilm to disinfection. Chen *et al.*(1996) have suggested an unsteady reaction diffusion model which enables prediction of the evolution of the chlorine concentration measured in an artificial biofilm of

Pseudomonas aeruginosa enveloped in an agarose gel more than 500 µm thick. The reaction rate between chlorine and fixed biomass in such a biofilm is $3.7*10^{-6}$ L mg Cl_2^{-1} s^{-1}, with a yield coefficient enabling the best correlations with the experimental results of 1.8 mg cellular biomass/mgCl_2. To summarize, De Beer *et al.* (1994) and Chen *et al.* (1996) suggest that the protection conferred by the biofilm comes from the fact that the chlorine is reduced more rapidly than it diffuses within the biofilm.

The results of chlorine demands of biofilm presented here support the hypothesis that a diffusion barrier exists and plays an important protective role. This diffusion barrier is linked to the 3-dimensional structure of the biofilm since a perturbation of this structure (by a detachment of the biofilm) caused the 4-hour chlorine demand of this biofilm to increase by a factor of 2.5. Since these observations have been made based on 4-hour chlorine demands, a diffusion barrier simply linked to the presence of a 3-dimensional organization in the biofilm effectively protects a large portion of the reactive sites within the biofilm for a minimum of 4 hours, and this holds true for an initial concentration of 5 mg Cl_2/l and a final concentration of more than 2.5 mg Cl_2/l. This observation seems to disagree with De Beer *et al.* (1995), who suggest rather that the influence of a diffusion barrier alone does not exceed a few minutes, even for a relatively thick biofilm (150-200 µm). These authors also suggest that the rate of diffusion calculated with a 1-dimensional model, perpendicular to the surface of the biofilm, is perhaps underestimated because of preferential channels which facilitate the diffusion of chlorine in the biofilm. In

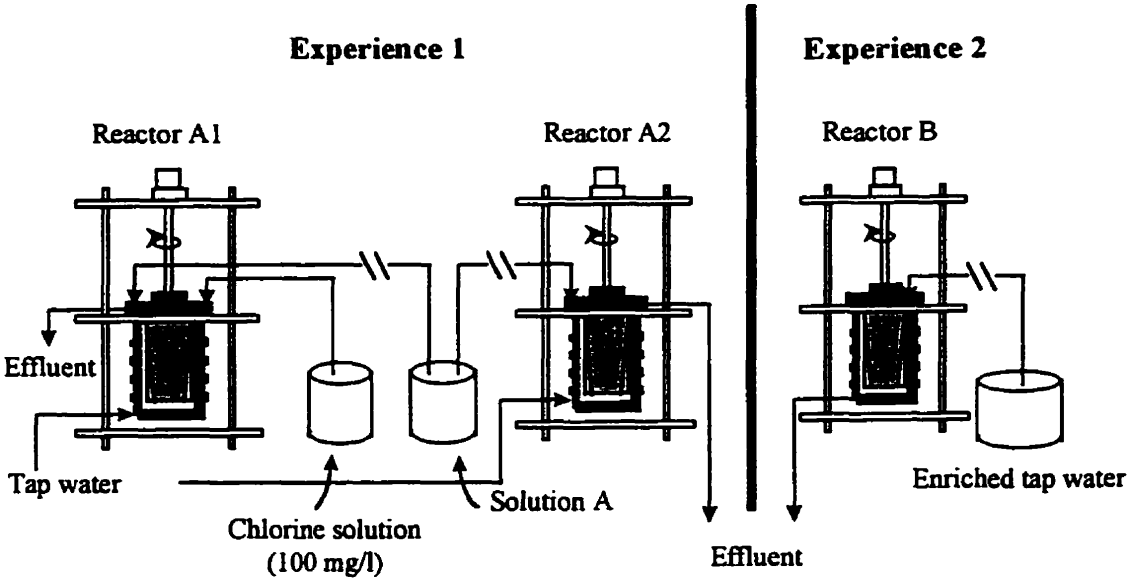
the light of our results, it must be envisaged that it is perhaps the very heterogeneity of the biofilm that permits the existence of zones which are particularly resistant to the diffusion of chlorine.

5.7 Conclusion

The results presented here illustrate how chlorine demand measurements can be used to characterize the impact of chlorination on a drinking water biofilm. The chlorination (over a 48-hour period with a chlorine residual of about 0.5 $mg.l^{-1}$) of a drinking water biofilm enables a reduction in its 4-hour chlorine demand of more than 50%. This same chlorination resulted in the destruction of more than 80% of the total aminoacids of this biofilm in less than 6 hours. However, other unidentified compounds appear to be responsible for more than 80% of the chlorine demand in this biofilm. It has also been shown that the structure of an intact biofilm (on its support media) protects a significant portion of the sites in a biofilm that are reactive to chlorine from the action of the chlorine, and this holds true for at least 4 hours with an initial dose of 5 mg Cl_2/l and a final dose of more than 2.5 mg Cl_2/l. Identification of the types of sites protected and their spatial locations in an intact biofilm could make it possible to determine more precisely what the mechanisms are that account for the relative resistance of the fixed biomass to chlorination.

5.8 Acknowledgments

This work was supported by the partners of the Industrial Chair on Drinking Water: the City of Laval, the City of Montreal, Vallée Lefebvre & associés, Groupe John Meunier-CGE and by grants from FCAR an NSERC.



	Experience 1	Experience 2
Rotation of internal cylinder	30 rpm	40 rpm
Total flow	3 ml/ min	2,3 ml/min
Water residence time	4 hr	5 hr
Sheer stress	0.65 N/m^2	0.75 N/m^2
Equivalent velocity in 15 cm dia.	0.14 m/s	0.15 m/s
Water pH	7.4	7.2
Reactor temperature	19 to 23°C	21 to 23°C
DOC (tap water)	about 0.6 mg C/l	2.2 mg C/l
BDOC (tap water)	not detectable	~ 0.2 mg C/l
Substrate addition	Galactose : 0.1 mg C/l Glucose : 0.2 mg C/l Yeast extract : 0.4 mg C/l	Yeast extract : 1.0 mg C/l
Total TOC	1.2 ± 0.15 mg C/l	~ 3.2 mg C/l

Figure 5.1 Experiment 1 and 2 annular reactor assemblies and their operating conditions.

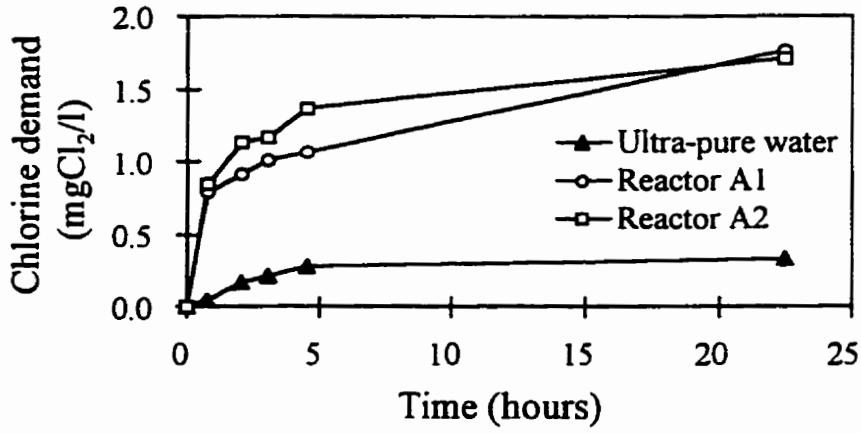


Figure 5.2 Evolution of the chlorine demand of the polycarbonate reactors preconditioned with solutions of nitric acid (10%) and chlorine (100 $mg.l^{-1}Cl_2$), and the chlorine demand of the ultra-pure water.

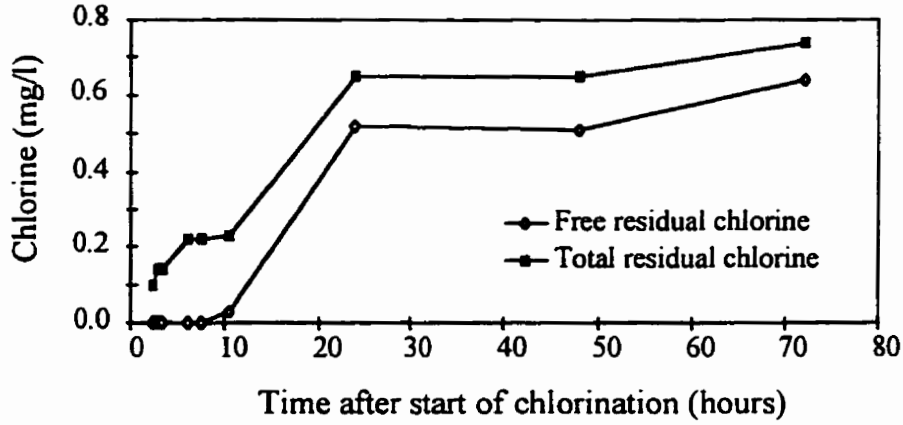


Figure 5.3 Evolution of concentrations of residual and total free chlorine at the outflow of the chlorinated reactor 1A (dose applied: 1.50 $mg.l^{-1}Cl_2$ up to 24 hours and 1.25 $mg.l^{-1}Cl_2$ thereafter).

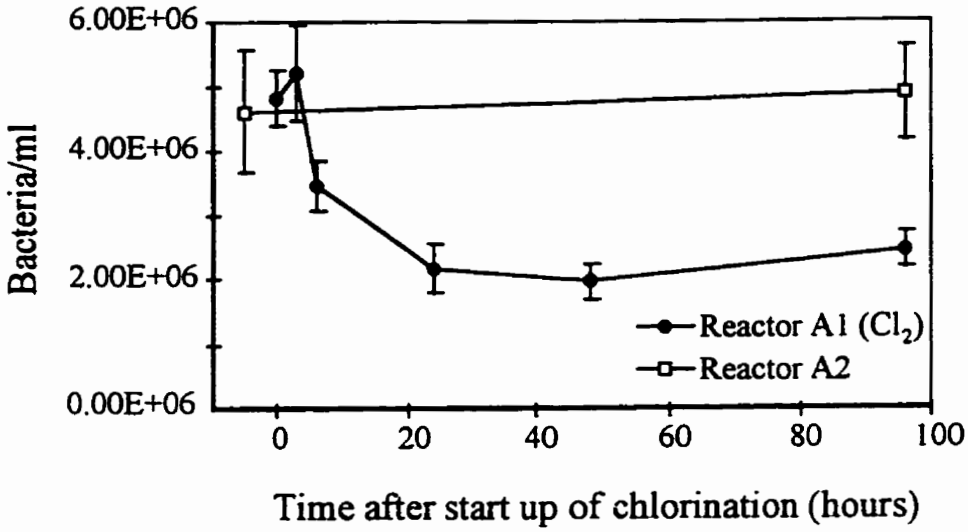


Figure 5.4 Evolution of the free bacteria at the effluent of the polycarbonate reactors slides after different chlorination times in reactor 1A.

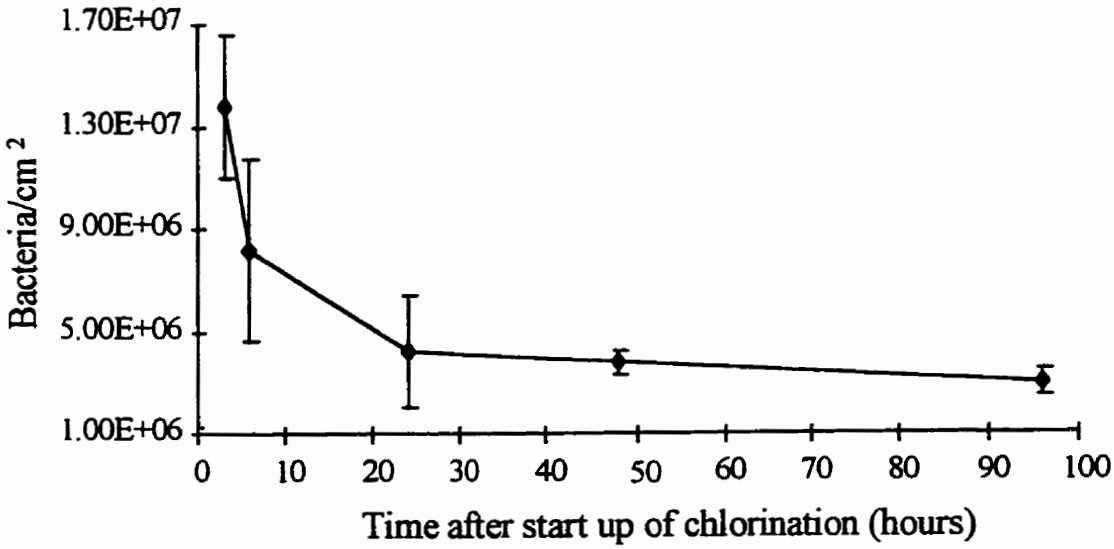


Figure 5.5 Evolution of the fixed biomass density of the biofilm suspensions taken from polycarbonate slides after different chlorination times in reactor A1.

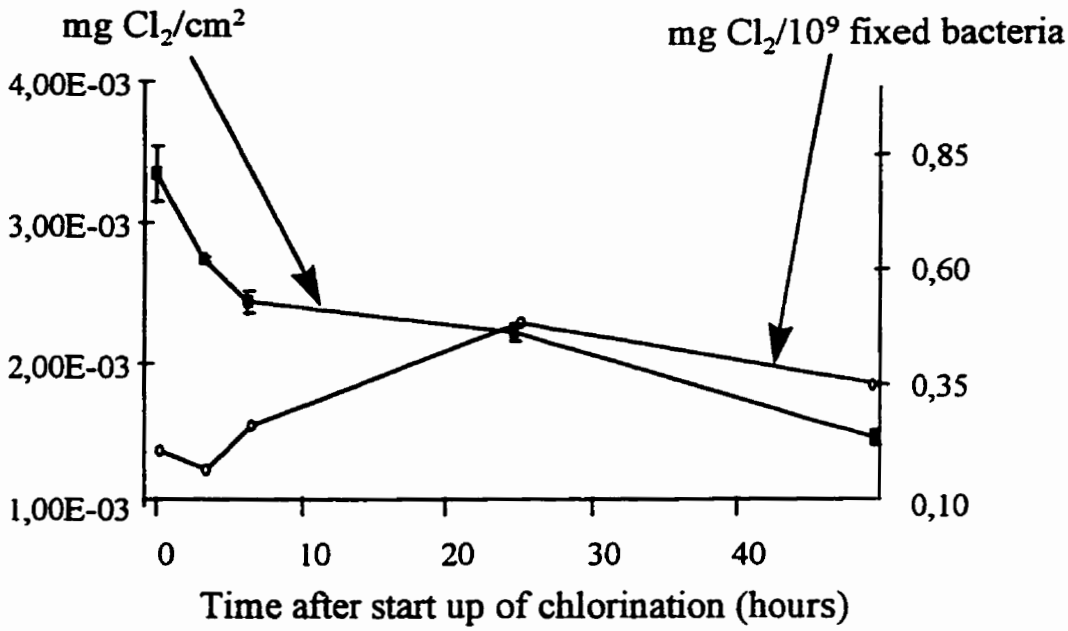


Figure 5.6 Evolution of 4-hour chlorine demands of whole slides per cm^2 of surface and by 10^9 fixed bacteria (rate of chlorination of 5 mg/l) after different chlorination times in reactor A1.

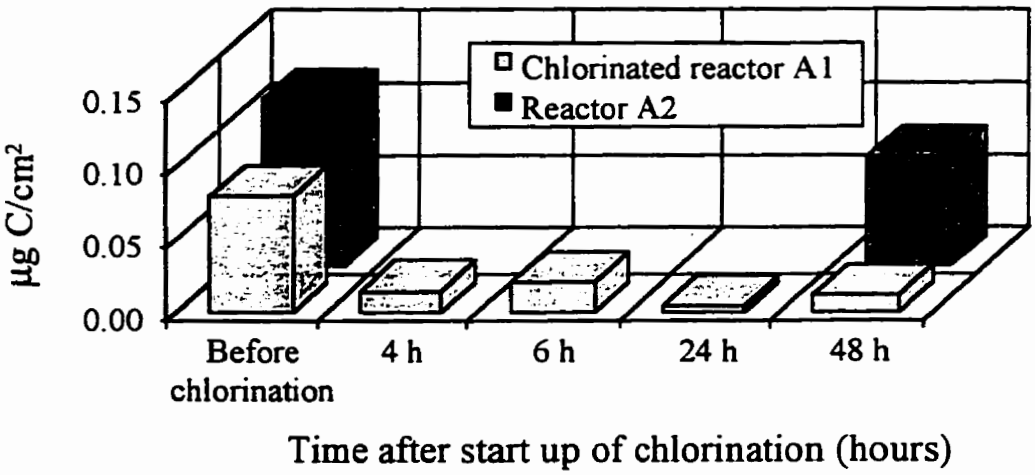


Figure 5.7 Evolution of the TAA content of the biofilm suspensions taken from polycarbonate slides after different chlorination times in reactor A1.

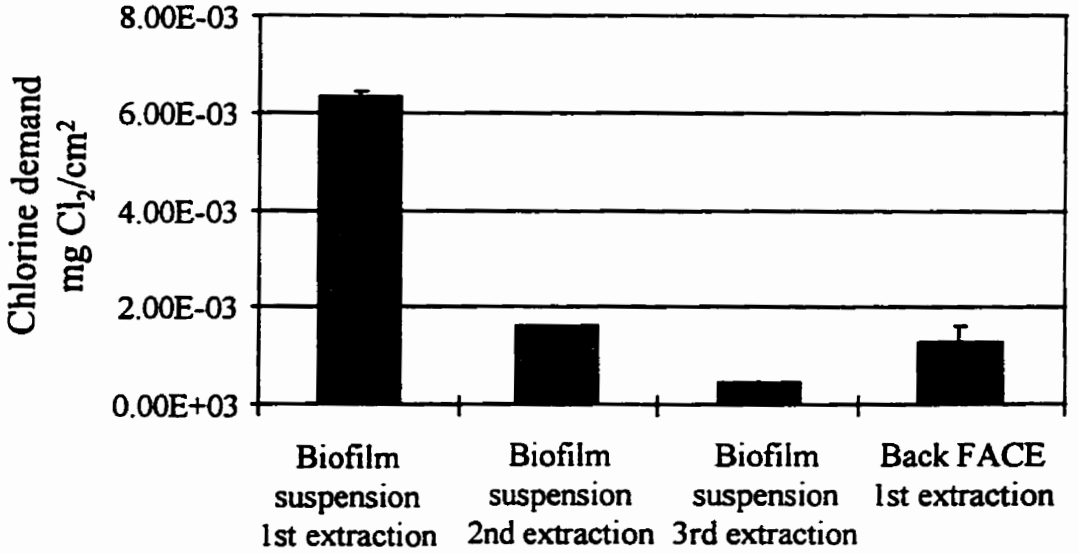


Figure 5.8 Four-hour chlorine demands of biofilm suspensions (from exposed face) and of suspensions from the BACK face of slides sampled in reactor B.

CONCLUSION SYNTHÈSE

Les trois thèmes abordés dans cette thèse sont reliés au contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution. Le premier thème a pour objet l'étude de la filtration biologique et plus précisément son effet sur la stabilité microbiologique de l'eau. Le deuxième thème regroupe les travaux reliés aux acides aminés, l'une des classes de composés participant à la matière organique biodégradable. Ces travaux portent sur l'efficacité des procédés de traitement dans l'enlèvement des acides aminés ainsi que sur l'influence de ces composés sur la stabilité microbiologique de l'eau. Une attention particulière a été accordée à la filtration biologique puisque l'objectif principal de cette dernière est justement d'enlever les substances biodégradables. Le troisième thème de cette thèse est la relative résistance de la biomasse fixée à la désinfection. Cette caractéristique de la biomasse fixée amplifie les problèmes de recroissance bactérienne causée par la présence de substrats dans l'eau traitée. Le rôle joué par le matériau de support et les dépôts de corrosion a été abordé de même que l'influence de la structure du biofilm.

Le travail présenté au chapitre 1 a montré que l'enlèvement du CODB par la filtration biologique diminue la densité de la biomasse fixée pouvant ensuite s'établir sur les parois des conduites de réseau de distribution. Cet effet de la filtration biologique s'est principalement manifesté à court temps de séjour, là où le CODB facilement

biodégradable est normalement consommé en absence d'oxydant. La filtration biologique n'a toutefois pas eu d'influence sur la densité de biomasse fixée à long temps de séjour, suggérant que ce procédé permet principalement de diminuer la recroissance en tête du réseau de distribution, du moins en l'absence de chloration.

La chloration des eaux d'alimentation des réacteurs à l'équilibre a permis de mettre en évidence l'influence du matériau et plus particulièrement des dépôts de corrosion sur la résistance du biofilm face à la désinfection. La chloration n'a pas eu d'effet sur la densité de biomasse fixée dans ces réacteurs. La corrosion importante de la surface interne des réacteurs de fonte a causé une forte demande en chlore, fournissant une protection indirecte contre l'action du chlore ainsi que des sites d'attachement supplémentaires pour le biofilm. L'influence du matériau de support sur la densité de biomasse la fixée et sur l'efficacité de la désinfection par le chlore a été confirmée par les essais en réacteurs annulaires de polycarbonate. En présence de chlore, il y a eu une diminution rapide de la biomasse fixée dans ces réacteurs. L'effet du chlore s'est poursuivi dans le réacteur exploité à 15 heures de temps de séjour. De plus, en absence de chlore, la densité de biomasse fixée dans les réacteurs en fonte s'est avérée plus importante que dans les réacteurs en polycarbonate. La différence attribuable à la nature du matériau de support est plus grande que celle attribuable à la réduction de la teneur en CODB par la filtration biologique. Cette observation démontre l'importance du contrôle de la corrosion lors du contrôle de la recroissance bactérienne en réseau de distribution. En effet, la présence de

dépôts de corrosion dans les conduites peut favoriser l'établissement de densités de biomasse fixée plus élevées et constituer un obstacle important au maintien d'une concentration résiduelle de chlore.

Le travail présenté au chapitre 2 concerne l'enlèvement des acides aminés totaux dans les chaînes de traitement. Les meilleurs enlèvements d'acides aminés totaux (34 à 72 %) ont été réalisés par la décantation. La filtration biologique a aussi permis des enlèvements importants (24 à 50 %). Par contre, l'ozonation a engendré des augmentations (20 à 100%) de la teneur en acides aminés totaux. Cette propriété de l'ozonation pourrait être expliquée par l'oxydation partielle de structures complexes comme les algues. D'autre part, l'augmentation de la teneur en acides aminés totaux suite à l'ozonation soulève la question de la fiabilité du protocole d'hydrolyse acide utilisé lors de la mesure des acides aminés totaux. En effet, une hydrolyse adéquate devrait permettre une récupération quantitative, ce qui est incompatible avec une augmentation de la teneur en acides aminés totaux suite à l'ozonation.

L'étude de l'enlèvement des acides aminés totaux par la filtration biologique a été présentée au chapitre 3. Les acides aminés totaux dissous, représentant 5,4 % du COD, 21 % du CODB, et 18 % de la demande en chlore à long terme de l'affluent du filtre CAB. La filtration biologique a permis un enlèvement de 46 % des acides aminés totaux dissous. Le pourcentage d'enlèvement des acides aminés totaux dissous est supérieur à

celui associé à l'enlèvement de CODB (24%), ce qui suggère que la biodégradabilité des composés formant les AATD est supérieure à la biodégradabilité globale du CODB. L'enlèvement d'acides aminés totaux compte pour un tiers de l'enlèvement de demande en chlore 240 heures et pour un cinquième de l'enlèvement de COB. L'enlèvement par la filtration biologique d'une fraction importante de la teneur en acides aminés montre l'utilité de cette étape de traitement pour de l'enlèvement de substances supportant la recroissance bactérienne et pour l'amélioration de la stabilité du chlore résiduel en réseau de distribution.

Les résultats présentés au chapitre 4 montre l'influence des acides aminés libres sur la stabilité microbiologique de l'eau. Ils confirment la pertinence de l'utilisation du modèle MERLIN pour l'analyse de résultats obtenus en réacteurs annulaires. Les résultats obtenus permettent de quantifier la biodégradabilité des acides aminés libres. Les faibles doses d'acides aminés libres ajoutées (0,1 et 0,2 mg C/l) ont été complètement consommées dans les réacteurs. De plus, la consommation d'acides aminés a influencé significativement la densité de biomasse fixée à l'équilibre.

Une vérification de l'applicabilité du modèle MERLIN pour l'analyse des résultats provenant de réacteurs annulaires a été réalisée à partir des résultats des chapitres 1 et 4. Cette vérification a fait ressortir les qualités de cet outil ainsi que les difficultés associées à la modélisation de résultats provenant de réacteurs annulaires.

Les résultats présentés dans le chapitre 5 ont montré la réactivité du chlore envers un biofilm d'eau potable. Les résultats montrent que les acides aminés totaux représentent 2 % du carbone organique total (COT) du biofilm et, au maximum, moins d'un cinquième de la demande en chlore à court terme (4 heures) d'un biofilm d'eau potable. D'autres composés non identifiés sont donc responsables de la plus grande fraction de la demande en chlore à court terme du biofilm. D'autre part, la demande en chlore à court terme d'une suspension de biofilm s'est avérée 2,5 fois plus élevée que celle exercée par un biofilm n'ayant pas été resuspendu. Ces derniers résultats suggèrent que la structure du biofilm offre une protection contre l'attaque du chlore, puisque certains sites réactifs y sont relativement à l'abri de la chloration, et ce pour une période de 4 heures à une concentration de chlore passant de 5 mg/l à 2,5 mg/l pendant la période de chloration.

En conclusion, cette thèse améliore la compréhension de l'impact de la filtration biologique sur la stabilité microbiologique de l'eau. La filtration biologique peut faire partie d'une stratégie globale du contrôle de la recroissance bactérienne dans laquelle le contrôle de la corrosion interne des réseaux de distribution se révèle être d'une grande importance. Cette thèse permet aussi de mieux définir la participation des acides aminés totaux à la matière organique biodégradable, à préciser l'efficacité des traitements dans l'enlèvement de ces composés et à illustrer l'impact des acides aminés libres en faible concentration sur la stabilité microbiologique de l'eau. Finalement, Cette thèse met en évidence l'importance de la structure du biofilm dans la relative résistance à la

désinfection de la biomasse fixée en montrant l'ampleur de la protection dont bénéficie les sites réactifs au chlore dans un biofilm vivant.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Le principal intérêt de la mesure des acides aminés totaux (AAT) est d'amener une information complémentaire à celle fournie par les méthodes de mesure de la matière organique biodégradable. Les travaux présentés dans cette thèse ont mis en évidence des difficultés associées à la mesure des AAT qui viennent limiter l'utilité de ce paramètre.

Premièrement, les suivis des AAT en usines ont mis en évidence le manque de fiabilité de l'hydrolyse acide, étape préalable à la quantification de ces composés. Les conditions d'hydrolyse choisies doivent représenter un compromis entre la libération d'acides aminés et leur destruction. Il est particulièrement difficile d'obtenir des conditions d'hydrolyse optimales pour l'analyse d'échantillons d'eau car la matière organique de l'eau est complexe et peut varier en fonction de la source d'eau, de la période de l'année et des traitements réalisés à l'usine. Il a été montré que l'ozonation de l'eau à l'usine modifie à la hausse la récupération d'acides aminés suite à l'étape d'hydrolyse. Il est difficile d'interpréter les résultats d'AAT si ceux-ci ne représentent pas des concentrations réelles mais plutôt des pourcentages de ces concentrations réelles variant de manière incertaine en fonction du type d'eau analysé.

Ensuite, la biodégradabilité associée aux AAT est elle aussi variable et fonction de la matrice de l'eau et des traitements appliqués. Par exemple, une valeur d'AAT obtenue

pour une eau filtrée sur charbon actif biologique n'a pas la même signification que la même valeur obtenue pour une eau ozonée. En effet, la biodégradabilité des AAT contenus dans l'affluent d'un filtre biologique est certainement supérieure à celle des AAT contenus dans son effluent puisque la filtration biologique enlève la fraction des AAT la plus biodégradable. Cette variabilité de la biodégradabilité des composés mesurés par la méthode des AAT rend complexe l'utilisation des valeurs obtenues.

Finalement, les mesures d'AAT sont relativement coûteuses et demandent beaucoup de temps à réaliser. De plus, l'équipement nécessaire n'est disponible que dans certains laboratoires de recherche. Ces contraintes techniques excluent la possibilité de réaliser des suivis à grande échelle.

À cause des problèmes de fiabilité de l'étape d'hydrolyse, de la biodégradabilité variable des composés mesurés et de la complexité de la méthode d'analyse, les mesures d'AAT ne sont pas vouées à un avenir prometteur dans le domaine de l'eau potable. Ceci n'exclue pas qu'il faille continuer à chercher de nouvelles façon de préciser la biodégradabilité de l'eau potable. Des approches moins coûteuses, plus simples d'application et dépourvues de biais analytiques sont à favoriser.

Plusieurs essais comportant l'utilisation de réacteurs annulaires ont été présentés dans cette thèse. Bien que les comparaisons réalisées au chapitre 1 montrent que les densités

de biofilm sont généralement plus élevées dans les réacteurs annulaires que dans les réseaux de distribution, les réacteurs constituent de bons outils de recherche et de diagnostic. En effet, les tendances observées dans les réacteurs annulaires permettent d'obtenir des renseignements pertinents quant aux facteurs contrôlant la recroissance en réseau de distribution. C'est pourquoi, avec leur coût relativement faible et leur polyvalence, les réacteurs annulaires sont des outils importants. Les résultats obtenus en réacteurs annulaires, associés à un effort de modélisation pourraient permettre de mieux définir l'influence des différents paramètres contrôlant la croissance bactérienne dans les réseaux de distribution.

RÉFÉRENCES

AFNOR (1987) Essais des eaux : Dosage du chlore libre et du chlore total par la méthode colorimétrique à la N,N-diéthylphénylène-1,4 diamine. Norme Française, NFT 90-038.

AGBEKODO M.K.A. (1994) Élimination par nanofiltration des composés organiques d'une eau de surface prétraitée - Caractérisation du carbone organique dissous avant et après nanofiltration. Thèse de doctorat, Université de Poitiers, France, 169 p.

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (1992) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

ANWAR, H., DASGUPTA, M.K. et COSTERTON J.W. (1990) Testing the Suseptibility of Bacteria in Biofilms to Antimicrobial Agents. Antimicrob. Agents Chemother. 34, 2043-2046.

BABLON G., BELLAMY W. D., BILLEN G., BOURBIGOT M.-M., DANIEL B., ERB F., GOMELLA C., GORDON G., HARTEMANN P., JORET J.-C., KNOCKE W., LANGLAIS B., LAPLANCHE A., LEGUBE B., LYKINS B., MARTIN G., MARTIN N., MONTIEL, A., MORIN M.-F., MILTNER R. S., PERRINE D., PRÉVOST M., RECKHOW D. A., SERVAIS P., SIGNER P. C., SPROUL O. J. et VANTRESQUE C. (1991) Practical Application of Ozone: Principles and Case Studies. Dans : Ozone in Water Treatment : Application and Engineering (Éditeurs : Langlais B., Reckow D. A., et Brink D. R.), Lewis Publisher, Chelsea, Michigan, USA. 133-316.

BAILEY J.E. ET OLLIS D. F. (1986) Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill. 984 p.

BARIBEAU H. (1995) Évolution des oxydants et des sous-produits d'oxydation dans les réseaux de distribution d'eau potable de ville de Laval, thèse de dosctorat, École Polytechnique de Montréal, 444 p.

BELL R.T. et KUPARINEN J. (1984) Assessing Phytoplankton and Bacterioplankton Production During Early Spring in Lake Erken, Sweden. Appl. Environ. Microbiol., 48, 1210-1230.

BERG J.D., MATIN A. et ROBERTS P.V. (1982) Effect of the Antecedent Growth Conditions on Sensitivity of *Escherichia coli* to Chlorine Dioxide. Appl. Environ. Microbiol., 44, 814-819.

BERMAN D., RICE E.W. et HOFF J.C. (1988) Inactivation of Particule-Associated Coliforms by Chlorine and Monochloramine. Appl. Environ. Microbiol., 54, 507-512.

BERNE-DOSSIER F. (1994) Analyse des acides aminés dans les eaux : développement et application. Thèse de doctorat, Université de Poitiers, France, 180 p.

BERNE-DOSSIER F., MERLET N., LEGUBE B. et CAUCHI B. (1996) Évolution des acides aminés et de la matière organique dissoute dans une filière de production d'eau potable : corrélations avec le carbone organique dissous biodégradable et le potentiel de demande en chlore à long terme. Sciences de l'eau, 9, 115-133.

BILLEN G. et SERVAIS P. (1988) Modélisation des processus de dégradation bactérienne de la matière organique en milieu aquatique. Dans: Microorganismes dans les écosystèmes océaniques, B. Masson edt., 219-245.

BILLEN G. (1991) Experimental Study of the Kinetics of Protein Degradation in Aquatic Environments: the Basis for a Model of Bacterial Organic Matter Degradation. Dans: Extracellular Enzymes in Aquatic Environments, R. Chrost ed., Springer Verlag, Berlin, 348-349.

BILLEN G. (1991) : Protein Degradation in Aquatic Environments. Dans : Microbial Enzyme in Aquatic Environments. R. Chrost, ed., Springer Verlag, Berlin, 123-143.

BILLEN G., SERVAIS P., BOUILLOT P. et VENTRESQUE C. (1992) Functioning of Biological Filters Used in Drinking Water Treatment - The CHABROL model - J. Water SRT-Aqua, 41, 231-241.

BLOCK J.C., MATHIEU L., SERVAIS P., FONTEVIELLE D. et WERNER P. (1992) Indigenous Bacterial Inocula for Measuring the Biodegradable Dissolved Organic Carbon (BDOC) in Waters Wat. Res., 26, 4, 481-486.

BOCCELLI D.L., TRYBY M.E., UBERJ.G., ROSSMAN L.A., ZIEROLF M.L. et POLYCARPOU M.M. (1997) Optimal Scheduling of Booster Disinfection in Water Distribution Systems. Soumis : J.AWWA, (mai 1997).

BOUILLOT P., SERVAIS P., BILLEN, G. et LEVI Y. (1992) Elimination du carbone organique dissous biodégradable durant la filtration biologique sur charbons actifs en grains. Sciences de l'Eau, 5, 33-49.

BROWN M.L., ALDRICH H.C. et GAUTHIER J.J. (1995) Relationship Between Glycocalyx and Povidone-Iodine Resistance in Pseudomonas aeruginosa (ATCC 27 853) Biofilms. Appl. Environ. Microbiol., 61, 187-193.

BROWN M.R.W., COLLIER Y. et GILBERT P. (1990) Influence of Growth Rate on Susceptibility to Antimicrobial Agents : Modification of the Cell Envelope and Batch and Continuous Culture Studies. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 34, 1623-1628.

BYRD J.J., XU H. et COLWELL R.R. (1991) Viable but Nonculturable Bacteria in Drinking Water. Appl. Environ. Microbiol., 57, 3, 875-878.

CALDWELL D.E., KORBER D.R. et LAURENCE J.R. (1992) Confocal Laser Microscopy and Computer image analysis. Adv. Microb. Ecol., 12, 1-67.

CAMPER A.K., HAYES J.T., JONES W.L., et ZELVER N. (1993) Persistence of Coliforms in Mixed Population Biofilms. Proc. AWWA - WQTC Conference. Miami, Floride.

CAMPER A.K., JONES W.L., et HAYES J.T. (1995a) Effect of Growth Conditions and Substatum Composition on the Persistence of Coliforms in Mixed Population Biofilms, soumis à : Appl. Environ. Microbiol.

CAMPER A.K., LECHEVALLIER M.W., BROADWAY S.C. et MCFETERS G.A. (1986) Bacteria Associated with Granular Activated Carbon Particules in Drinking Water. Appl. Environ. Microbiol., 52, 434-438.

CAMPER, A.K., JONES W.L., LU G., et BORKOWSKI J. (1995b) Influence of Water Quality Parameters on Biofilm Growth in Model Drinking Water Distribution Systems. Soumis à : J. AWWA.

CAMPER A.K., ZELVER N., JONES W.L., et BORKOWSKI J., (1996) Physical Distribution System Models for Assessing Regrowth: Pipe Loops and Annular Reactors, soumis à : J.AWWA.

CARGILL K.L., PYLE B.H., SAUER R.L. et MCFETERS G.A. (1992) Effects of Culture Conditions and Biofilm Formation on the Iodine Susceptibility of *Legionella pneumophilia*. Can. J. Microbiol., 38, 423-429.

CHARACKLIS W.G. et ROE F.L. (1984) Monitoring Build-up of Fouling Deposits on Surfaces of Fluid Handling Systems. US Patent, 4,485,450, 27 novembre.

CHARACKLIS W.G. et MARSHALL K.C. (1989) Biofilms. J. Wiley and Sons, Series in Ecological and Applied Microbiology.

CHARACKLIS W.G. (1990). Laboratory Biofilm Reactors. 55-89 Dans : Biofilms. Characklis W.G. and K.C. Marshall (eds) John Wiley and Sons, New York, USA.

CHEN C.I., GRUBE R. SRINIVASON R. et STEWART P.S. (1993) Effects of Various Metals Substrate on Accumualtion of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms and Efficacy of Monochloramine as a Biocide. Biofouling, 7, 241-251.

CHEN X. et STEWART P.S. (1996) Chlorine Penetration into Artificial Biofilm is Limited by a Reaction-Diffusion Interaction, Environ. Sci. Technol., 30, 2078-2083.

COALLIER J., DUCHESNE D. et LAFRANCE P. (1993) Les dénombrements bactériens dans trois réseaux de distribution d'eau potable et leur impact face à la réglementation. Sci. et Techniq. de l'eau, 26, 195-201.

CONNOLY J.P., COFFIN R.B. et LANDECK R.L (1994) Modeling Carbon Utilization by Bacteria in Natural Water Systems. Dans : Modelling the Metabolic and Physiologic and Activities of Microorganisms, Hurst, C. J., USEPA edt., John Wiley and Sons Inc., USA.

COSTERTON J.W., CHENG K.J., GEESEY G.G., LADD T.I., NICKEL J.C., DASGUPTA M. et MARRIE T. J. (1987) Bacterial Biofilm in Nature and Disease. Annu Rev. Microbiol. 41, 435-464.

DAVIS C. (1994) Étude des paramètres hydrauliques qui influencent la croissance du biofilm bactérien dans les conduites de distribution d'eau potable. Projet de fin d'étude, Génie civil, École Polytechnique de Montréal.

DE BEER D., SRINIVASAN R. et STEWART P. (1994) Direct Measurement of Chorine Penetration in Biofilm during Disinfection. Am. Soc. for Microbiol., 60, 4339-4344.

DESJARDINS R., JUTRAS L. et PRÉVOST M. (1997) Évolution de la qualité de l'eau dans le réseau de distribution de la ville de Montréal. Sciences de l'eau, 10, 2, 167-184.

DONLAN R.M., PIPES W.O. et YOHE T.L. (1994) Biofilm Formation on Cast Iron Substrata in Water Distribution Systems.

DORÉ M. (1989) Chimie des oxydants et traitement des eaux. Technique et Documentation Lavoisier, Paris, France, 506 p.

DUBREUIL G. (1995) Étude de méthodes de mesure de deux paramètres de contrôle de la filtration biologique : la biomasse fixée et le CODB. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, 161 p.

El MORER A. (1992) Contribution à l'étude cinétique de la chloration des acides aminés libres et combinés. Thèse de doctorat, Université de Tétouan, Maroc.

FORD T., SACCO E., BLACK J., KELLEY T., GOODACRE R., BERKELEY R.C.W. et MITCHELL R. (1991) Characterization of Exopolymers of Aquatic Bacteria by Pyrolysis-mass Spectrometry. Appl. envir. Microbiol. 57, 1595- 1601.

GAUTHIER C., HUREÏKI, L. et PREVOST M. (1994) Les acides aminés : efficacité des traitements et devenir dans les réseaux de distribution. 6e atelier sur l'eau potable - AQTE, Montréal, Canada, 15-17 novembre.

GAUTHIER C., PRÉVOST M., MAILLY J. et ROMPRÉ A. (1996) Impact de le teneur en acides aminés sur la stabilité microbiologique de l'eau potable : Essais en réacteurs annulaires. Proc. Atelier M.O.B., Poitiers, France.

GJALTEMA A., ARTS P.A., van LOOSDRECHT M.C.M., KUENEN J.G. et HEIJNEN J.J. (1994) Heterogeneity of Biofilm in Rotating Annular Reactors : Occurrence, Structure and Consequences. Biotechnol. Bioeng., 44, 194-204.

GOTTSCHALK G. (1986) Bacterial Metabolism. Springer Series in Microbiology, deuxième édition, New-York, 359 p.

GRIEBE T., CHEN C.I., SRINIVASAN R. et STEWART P. (1994) Analysis of Biofilm Disinfection by Monochloramine and Free Chlorine. Dans : Biofouling, chap. 9, 151-160 J. Wiley and Sons, Series in Ecological and Applied Microbiology.

HERSON D.S. MCGONIGLE B., PAYER M.A. et BAKER K.H. (1987) Attachment as a Factor in the Protection of *Enterobacter cloacae* from Chlorination., Appl. Environ. Microbiol., 53, 1178-1180.

HIRAISHI A., FURUHATA K., MATSUMOTO A., KOIKE K.A., FUKUYAMA M. et TABUCHI K. (1995) Phenotypic and Genetic Diversity of Chlorine-Resistant Methylobacterium Strains Isolated from Various Environments. Appl. Environ. Microbiol., 61, 2090-2117.

HOBBIE J.E., DALEY R.H., et JASPER S. (1977) Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy. Appl. Environ.Microbio., 33, 1225-1228.

HORAN N.J., et ECCLES C.R. (1986) Purification and Characterization of Extracellular Polysaccharides from Activated Sludges. Wat. Res. 20, 1427-1432.

HUANG C.T., YU F.P., MCFETERS G.A. et STEWART P.S. (1995) Nonuniform Spacial Paterns of Respiratory Activity within Biofilms during Disinfection., Appl. Environ. Microbiol., 61, 2252-2256.

HUCK P.M., ANDERSON W.B., ROWLEY S.M. et DAIGNAULT S.A. (1991) Formation and Removal of Selected Aldehydes in a Biological Drinking Water Treatment Process. Aqua, 39, 5, 321-333

HUREIKI L. (1993) Étude de la chloration et de l'ozonation d'acides aminés libres et combinés en milieu aqueux dilué. Thèse de doctorat, Université de Poitiers, France, 141 p.

HUREIKI L., CROUÉ J.P. and LEGUBE B. (1994) Chlorination studies of free and combined amino acids. Wat. Res., 28, 12, 2521-2531.

HUREIKI, L., GAUTHIER, C. ET M. PRÉVOST (1996) Étude de l'évolution des acides aminés totaux dans deux filières de traitement d'eau potable, Sciences de l'eau, 9, 3 , 297-318.

JADAS-HÉCART A. (1989) Contribution à l'étude de la demande en chlore à long terme d'une eau potable. Modélisation et identification de précurseurs organiques, Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, n° d'ordre 282, 150 p.

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

JANSSENS J.G, MEHEUS J. et DIRICKX J. (1984) Ozone Enhanced Biological Activated Carbon Filtration and its Effect on Organic Matter Removal, and in Particular, on AOC Reduction. Water Sci. Tech., 17, 1055-1068

JONES N.B. et JAMES P.G. (1983) Amino Acid Analysis by 0-Phthtaldialdehyde Precolumn Derivatization and Reverse-Phase HPLC, Amer. Biotech. Lab., 12, 46-51.

JUTRAS L. (1995) Évolution de la qualité de l'eau dans le réseau de distribution d'eau potable de la Ville de Montréal. Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal, 95 p.

KIÉNÉ L. (1994) Can Chlorine Decay in Distribution Systems Be Predicted by Corrosion Monitoring, Proc. AWWA-WQTC Conference, San-Francisco (CA).

KIÉNÉ L. LU W. et LÉVI Y. (1996) Relative importance of Phenomena Responsible of the Chlorine Consumption in Drinking Water Distribution Systems. Proc. AWWA-WQTC Conference, Toronto.

KUCHA J.M., STATES H.E., MCGLAUGHLIN H.E., OVERMEYER J.H., WAETOWSKI R.M. MCNAMARA A.M., WOLFORD R.S. et YEE R.B. (1985) Enhanced Chlorine Resistance of Tap Water-Adapted *Legionella pneumophilia* as Compared with Agar Medium-Passaged Strains. Appl. Environ. Microbiol., 50, 21-26.

LAURENT P., et SERVAIS P. (1995) Fixed Bacterial Biomass Estimated by Potential Exoproteolytic Activity. Can. J. of Microbiol., 41, 8, 749-752.

LAURENT, P. et SERVAIS P. (1995) Attached Bacterial Biomass Estimated by Potential Exoproteolitic Activity. Can. J. of Microbiol., 41, 8, 749-752.

LAURENT P., PRÉVOST M., CIGANA J., NIQUETTE P. et SERVAIS P. (1997) Biodegradable Organic Matter Removal in Biological Filters : Validation of the CHABROL Model. Soumis : Wat. Res.

LAZAROVA V. et MANAM J. (1994) Biofilm Characterization and Activity Analysis in Water and Wastwater Treatment. Review Paper. Wat. Res. 29, 10, 2227-2245.

LE CLOIREC C., LE CLOIREC P., MORVAN J. et MARTIN G. (1983) Évolution des produits organiques azotés (P.O.A.) dans différentes filières de potabilisation. J. Français d'Hydrologie, 14, 59-74.

LE CLOIREC G. et MARTIN G. (1984) Evolution of Amino Acids in Water Treatment Plants and the Effect of Chlorination on Amino Acids. Dans : Water Chlorination : Environmental Impact and Health Effects. Jolley R., L., Brungs W. A. and Cumming R. B., Eds. (Ann Arbor, MI : Ann Arbor Science Publishers, Inc.), 5, 821-834.

LE CLOIREC-RENAUD C. (1984) Analyse et évolution de la micropollution organique azotée dans les stations d'eau potable: Effet de la déchloration sur les acides aminés. Thèse de doctorat, Université Rennes I, École Nationale Supérieure de Chimie, n° d'ordre 174.

LECHEVALLIER M.W., BABCOCK T.M. et LEE R.G. (1987) Examination and Charaterization of Distribution System Biofilms. Appl. Envir. Microbiol., 53, 2714-2724.

LECHEVALLIER M.W., CAWTHON A.E. et R.G. LEE, (1988a) Factors Promoting Survival of Bacteria in Chlorinated Water Supplies. Appl. Env. Microbiol., 54, 649-654.

LECHEVALLIER M.W., CAWTHON C.D. et LEE R.G., (1988b) Inactivation of Biofilm Bacteria. Appl. and Environm. Microbiol., 54, 2492-2499.

LECHEVALLIER M.W., LOWRY C.D. et LEE R.G. (1990) Disinfection of Biofilms in a Model Distribution System. Jour. AWWA., 82, 7, p. 87-99.

LECHEVALLIER M.W., SCHULZ W. et LEE R.G. (1991) Examination and Characterization of Distribution System Biofilm. Appl. Env. Microbiol., 53, 2714-2724.

LECHEVALLIER M.W., LOWRY C.D., LEE R.G. et GIBBON D.L (1993) Examining the Relationship Between Iron Corrosion and the Disinfection of Biofilm Bacteria. J. AWWA. 85, 111-123.

LECHEVALLIER M.W., WELCH N.J. et SMITH D.B. (1996) Full-Scale Studies of Factors Related to Coliform Regrowth in Drinking Water. Appl. Environ. Microbiol., 62, 2201-2211.

LEVY R.V., HART F.L., et CHEETHAM R.D. (1986) Occurence and Public Health Significance of Invertebrates in Drinking Water Systems. J. AWWA. 78, 195-110.

LEYVAL C., ARZ C., BLOCK J.C. et RIZET M. (1984) *Escherichia coli* Resistance to Chlorine after Successive Chlorinations. Envion. Technol. Letters., 5, 359-364.

LINDROTH P. et MOPPER K. (1979) High Performance Liquid Chromatographic Determination of Subpicomole Amounts of Amino Acids by Precolomn Derivatization with o-Phtaldialdehyde. Analyt. Chem., 51, 1667-1674.

LUCAS M.I., NEWELL R.C. et VELIMIROV B. (1981) : Heterotrophic Utilisation of Mucilage Released During Fragmentation of Kelp. Differencial Utilisation of Dissolved Organic Components from Kelp Mucilage. Mer. Ecol. Progr. Ser. Vol. 4, p. 43-55.

MATHIEU L., PAQUIN J.L., BLOCK J.C. RANDON G., MAILLIARD J. et REASONER D.J. (1992) Paramètres gouvernant la prolifération bactérienne dans les réseaux de distribution. Sciences de l'Eau., 5, 91-112.

MATHIEU L., BLOCK J.C., PRÉVOST M., MAUL A., et DEBISCHOP R. (1995) Biological Stability of Drinking Water in the City of Metz Distribution System, *Aqua*., 44, 5, 230-239.

MCFETERS G.A. (1990) Enumeration, Occurrence and Significance of Injured Indicator Bacteria in Drinking Water. Dans : Drinking Water Microbiology, 478-492, McFeters G.A. (ed) Springer-Verlag Pubishers, New-York.

MERLET N., PRÉVOST M., MERLET Y., et COALLIER J. (1991b) Enlèvement de la matière organique dans les filtres CAB, Special Edition on Biodegradable Organic Matter, Sciences de l'eau, 5, 143-160.

MITTON M.J. (1993) Quantitative Relationships for the Removal of Biodégradable Organic Matter and Related Parameters in Biological Drinking Water Treatment. Thèse de doctorat, Université d'Alberta, Canada, 311 p.

MORRIS R.D., AUDET A.M., ANGELILLO I.F., CHALMERS T.C. et MOSTELLER F. (1992) Chlorination, Chlorination By-Products and Cancer : a Meta-Analysis. Am. Jour. of Pub. Health, 82, 7, 955-963.

NIQUETTE P., PRÉVOST M., MACLEAN R. G., THIBEAULT D., COALLIER J et DESJARDINS R. (1995) Factors Affecting the Performance and Stability of First Stage

Sand-activated Carbon Filters for the Removal of Biodegradable Organic Matter and Ammonia. Proc. AWWA-WQTC Conference, *New-Orleans* (LO), 391-410.

NIQUETTE P. (1996) Étude de facteurs influençant la stabilité et la performance de la filtration sur charbon actif biologique. Thèse de doctorat, École Polytechnique de Montréal, 306 p.

PAYMENT P., FRANCO E., et SIEMIATYCKI J. (1993). Absence of Relation Between Health Effects Due to Tap Water Consumption and Drinking Water Quality Parameters. Wat. Sc. Tech., 27, 137-143.

PERNITSKI D.J., FINCH G.R. et HUCK P.M. (1995) Disinfection Kinetics of Heterotrophic Plate Count Bacteria in Biologically Treated Potable. Wat. Res., 29, 1235-1241.

PRÉVOST M. (1991) Étude de l'impact de la filtration au charbon actif biologique sur la qualité de l'eau potable. Thèse de doctorat, Génie civil, École Polytechnique de Montréal, 293 p.

PRÉVOST M., DESJARDINS R. et LAFRANCE P. (1991a) Bilan sur le traitement biologique de l'eau potable. Sci. Tech. de l'Eau., 24, 4, 311-319.

PRÉVOST M., DESJARDINS R., DUCHESNE D., et POIRIER C. (1991b) Chlorine Demand Removal by Biological Treatment in Cold Water. Envir. Tech., 12, 569-580.

PRÉVOST M., COALLIER J., DUCHESNE D. et DESJARDINS R. (1992) Comparison of Biodegradable Organic Carbon Techniques for Process Control. Aqua., 41, 3, 141-146.

PRÉVOST M., DESJARDINS R., LAFRANCE P., DUCHESNE D. et COALLIER, J. (1993) Optimization of Biological Activated Carbon (CAB) Filtration of Drinking Water : Effect of Filtration Velocity, Ozone Dosage and Position and of Carbon Type.

AWWARF-Fifrth national Conference on Drinking Water Proceedings, Winnipeg, Canada, 63-67.

PRÉVOST M., ROMPRÉ A., BARIBEAU H., COALLIER J., et LAFRANCE P. (1997) Impact of Service Lines on the Microbiological Quality of Drinking Water. Accepté J.AWWA., juillet.

PYLE B.H., WATTERS S.K. et MCFETERS G.A. (1994). Physiological Aspects of Disinfection Resistance in *Pseudomonas cepacia*. J. Appl. Bacteriol., 76, 142-148.

REASONER D.J. (1990) Monitoring Heterotrophic Bacteria in Potable Water. Dans : Drinking Water Microbiology, 452-477, McFeters G.A. (ed) Springer-Verlag Pubishers, New-York.

REILLY J.K., et KIPPIN J.S. (1983) Relationship of Bacterial Counts with Turbidity and Free Chlorine in Two Distribution Systems. J. AWWA., 75, 309-312.

RIDGWAY H.F., OLSON B.H. (1982) Chlorine Resistance Paterns of Bacteria from Two Drinking Water Distribution Systems. Appl. Environ. Microbiol., 44, 972-987.

ROBERTSON W., TOBIN R. et KJARTANSON K. (1992) Disinfection Dilema : Microbiological Control Versus By-Products. Proc. 5ème Conférence nationale sur l'eau potable. Manitoba, Canada, 347 p.

ROMPRÉ A. (1993) Évolution de paramètres bactériologiques dans des réseaux de distribution d'eau potable. Mémoire de maîtrise. Génie civil, École Polytechnique de Montréal, 140 p.

SCULLY F.E., HOWELL G.D., KRAVITZ R., JEWELL J.T., HAHN V. et SPEED M. (1988) Proteins in Natural Waters and their Relation to the Formation of Chlorinated Organics during Water Disinfection, Environ. Sci. Technol., 22, 537-542.

SERKEDJIEVA R., (1995). Contribution à l'étude de l'impact du traitement sur la stabilité biologique de l'eau potable. Mémoire de maîtrise., Génie civil, École Polytechnique de Montréal, 130 p.

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

SERVAIS P., BILLEN G. et HASCOET M.C. (1987) Determination of the Biodegradable Fraction of Dissolved Organic Matter in Waters. Wat. Res., 21, 445-450.

SERVAIS P., ANZIL A., et VENTRESQUE C. (1989) A Simple Method for the Determination of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Waters. Appl. Environ. Microbiol., 55, 2732-2734.

SERVAIS P., BILLEN G., VENTRESQUE C. et BABLON G. (1991a) Measurments of Microbial Activity in Granular Activated Carbon Filters. Application to the Optimization of the Drinking Water Treatment at the Choisy-le-Roy Plant. J.AWWA., 83, 8, 62-68.

SERVAIS P., BILLEN G. et BOUILLOT P. (1991b) Activité biologique dans un filtre à charbon actif en grains. Sciences de l'Eau., 4, 43-58.

SERVAIS P., BILLEN G., BOUILLOT P. et BENEZET M. (1992a) A Pilot Study of GAC Biological Filtration in Drinking Water Treatment. Aqua, 3, 163-169.

SERVAIS P., LAURENT P., BILLEN G. et LEVI Y. (1992b) Étude de la colonisaton bactérienne des réseaux de distribution. Sciences de l'Eau., 6, 321-326.

SERVAIS P., VIVES-REGO J. et BILLEN G. (1992c) Survival and Mortality of Bacteria in natural Environment. Dans : Release of Genetically Engineered and Other Microorganisms. J.C. Fry and M.J. Days Eds., Cambridge University Press, 100-119.

SERVAIS P., LAURENT P., et RANDON G. (1995a) Comparison of the Bacterial Dynamics in Various French Distribution Systems. Aqua, 44, 1, p. 10-17.

SERVAIS P., LAURENT P. et GATEL D. (1995b) Characterization of Dissolved Organic Matter in Waters : Impact of Water Treatment and Bacterial Regrowth in distribution System. Proc. AWWA-WQTC, New Orleans (LO), 2175-2190.

SERVAIS P., LAURENT P., BILLEN G. et D. GATEL (1995c) : Développement d'un modèle décrivant les variations de CODB et de biomasse bactérienne dans les réseaux de distribution. Revue des Sciences de l'Eau, Vol. 8, N°4, 427-462.

SIBILLE I., MATHIEU L., PAQUIN J.L., BLOCK J.C., HARTEMAN P., CLARK R., GATEL D., CAVARD J., LAHOUSSINE V., et GAUTHIER V. (1995) Improvement of Water Quality During Distribution Using Nanofiltration, Proc. AWWA-WQTC Conference., New Orleans, Lousiana, USA.

SMITH D.B., HESS A.F., et OPHEIM D. (1989) Control of Distribution System Coliform Regrowth. Proc. AWWA-WQTC Conference., San Diego, Californie, USA.

SOMVILLE M., et BILLEN G. (1983) A Method for Determining Exoproteolytic Activity in Natural Waters. Limnol. and Oceanography., 28, 190-193.

SPERANDIO A. et PÜCHNER P. (1993) Bestimmung der Gesamtproteine als Biomasse-Parameter in Wäbrigen Kulturen und auf Trägermaterialen aus Bio-Reactoren. Wasser-Abwasser GMF,134, 482-485.

SRINIVASAN R., STEWART P.S., GREBE T., CHEN C.I. et XU X. (1995) Biofilm Parameters Influencing Biocide Efficacy. Biotechnol. Bioeng., 46, 553-563.

SUTHERLAND I. W. (1983) Extracellular Polysaccharides. Dans Biotechnology, 3, chap. 3, H.J. Rehm et .G. Reed ed., 531-574.

THURMAN E.M. (1985) Developments in Biochemistry : Organic Geochemistry of Natural Waters. Pubilcations Nijhoff M. et W. Junk, Dordrecht, 497 p.

TUOVINEN O.H., MAIR D.M. et BANOVIC J. (1984). Chlorine Demand and Trihalomethane Formation by Tubercules from Cast Iron Water Mains. Environ. Technol. Letters, 5, 97-108.

VAN DER KOOIJ D., VISSER A. et HIJNEN W.A.M. (1982) Determining the Concentration of Easily Assimilable Organic Carbon in Drinking Water. J.AWWA., 74, 10, 540-545.

VAN DER KOOIJ D., HIJNEN W.M.A. et KRUITHOF J.C.(1989) The Effects of Ozonation, Biological Filtration and Distribution on the Concentration of Easily Assimilable Organic Carbon (AOC) in Drinking Water. Ozone Sci. Eng., 11, 297-311.

VAN DER KOOIJ D. (1990) Assimilable Organic Carbon (AOC) in Drinking Water. Dans : Drinking Water Microbiology., G.A. McFeters (ed.), Springer-Verlag, New-York, USA, 57-87.

VAN DER WENDE E. (1991) Biocide Action of Chlorine on *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. Ph.D. dissertation, Department of Civil Engineering, Montana State University, Bozemann, USA.

VOLK C. (1994) Contrôle de la matière organique biodégradable au cours des traitements d'oxydation et de la distribution des eaux d'alimentation. Thèse de doctorat, École Nationale des Ponts et des Chaussées, 186 p.

VOLK C. et JORET J.C. (1994) Paramètres prédictifs de l'apparition des coliformes dans les réseaux de distribution d'eau d'alimentation. Sciences de l'Eau., 7, 131-152.

VOLK CH., VOLK CA. et KAPLAN L. A. (1996) The Chemical Composition of Biodegradable Organic Matter in Sreamwater, Limnology and Oceanography, 42, 1, p. 39.

WOLFAARDT G.M. et CLOETE T.E. (1992) The Effet of Some Environmental Parameters on Surface Colonization by Microorganisms. Wat. Res., 26, 4, 527-537.

ANNEXE 1 :

RAPPORT AWWARF : MICROBIAL IMPACT OF BIOLOGICAL F ILTRATION

Chapitre 3 :

Impact of reducing biodegradable organic matter on fixed and suspended biomass in distribution systems, Annie Rompré et Michèle Prévost, (1996).

Chapter 3

Impact of Reducing Biodegradable Organic Matter on Fixed and Suspended Biomass in Distribution Systems

Executive Summary (Chapter 3)

Study Objectives and Approach

The primary objective of this part of the study was to document the effect of biological filtration on regrowth in distribution systems at pilot and full-scale levels.

The project was conducted by members of the Industrial Chair on Drinking Water of the Civil Engineering Department of École Polytechnique of Montréal. Analytical monitoring was completed in the Chair's research laboratories. Data and samples were collected from the full-scale distribution systems (DS) of City of Laval and on annular reactors located in the St.Rose water treatment plant.

Two sets of studies were completed to document the impact of BAC filtration :

1) full-scale DS studies in which data were collected from the full-scale DS of City of Laval;
2) validation studies conducted on annular reactors.

Results obtained on the annular reactors were compared to those obtained in the full-scale distribution systems at similar residence times and under similar oxidation conditions.

Experimental Approach

The effect of biological treatment on regrowth in full-scale DS was studied by comparing the densities of fixed and suspended biomass in DS fed by three treatment plants that use different treatment processes but that are fed by similar raw water sources. The Pont Viau and Chomedey treatment plants use conventional treatment, followed by ozonation and final disinfection with either chlorine or chlorine dioxide. In the case of the St.Rose treatment plant, ozonation is followed by biological filtration on activated carbon and small dosages of chlorine dioxide are used for post-disinfection. Sampling was performed directly on DSs pipes in valve chambers using Pitot tubes. On-line coupon devices were installed directly on-line in valve chambers on the distribution systems to sample biofilm. Samples were collected at various residence times on the three distribution systems of City of Laval, to evaluate the combined effects of nutrient loading and oxidant residual.

To separate the effect of nutrient and oxidant, the effect of biological treatment on regrowth was studied at pilot scale. The impact of nutrient loading was studied by comparing the densities of fixed and suspended biomass in annular reactors fed by either ozonated water (high level of nutrient) or BAC filtered water (lower nutrient levels). Reactors were operated in series at 1 and 15 hours of cumulative residence time. The impact of material and corrosion was investigated by comparing the results from grey iron reactors to those obtained in inert polycarbonate reactors.

Results

Full-scale DS results

Full-scale DS were sampled in cold and warm water for fixed and bulk liquid biomass on three DS including one DS fed by a biological treatment (the St.Rose DS). Data on fixed biomass suggest that colonization of metal surfaces is a slow process (weeks) in the presence of chlorine residual. Higher densities of fixed bacteria were measured in warm water in all systems sampled whatever the measurement method used, the potential exoproteolytic activity (PEPA) or HPC after scraping. In warm water, biomass densities peaked at mid-points of the DSs and then decreased somewhat with residence time. These trends were observed with both biomass measurement techniques. The results also show no difference in maximum fixed biomass densities in DS fed by conventional or biological treatment. This may be explained by the following facts: 1) no oxidant residual was maintained in the DS fed by a plant using biological treatment whereas chlorine residuals were maintained in the nutrient rich DS; 2) biofilm densities are not good indicators of biofilm activity.

Annular reactors results

The second set of experiments was conducted in the St.Rose water treatment plant to evaluate the importance of biological treatment (BAC filtration) and chlorination on suspended biomass and fixed biomass composition and density found in annular reactors. By using annular reactors, the hydraulic conditions and other experimental parameters could be controlled. Two full experiments were conducted to validate conclusions. Major findings include:

- Results from annular reactors suggest that removing the rapidly biodegradable organic content by biological activated carbon filtration decreases the density of biofilm at short residence times. Biological stabilization by BAC filtration reduces the substrate which could support regrowth in the front-end of the DS. More slowly biodegradable substrate is not removed by BAC filtration and is consumed in bioreactors operated at longer residence times. This was confirmed by the absence of difference in biomass densities and dissolved organic carbon consumption in the reactors fed with ozonated and BAC filtered water and operated at 15 hours of residence time.

- Rapid and extensive corrosion of grey iron was observed under the experimental conditions tested. Corrosion by-products exerted a strong and persistent chlorine demand. No impact of chlorination on fixed biomass density was observed in the first experiment. In the repeat experiment, chlorination produced a slight decrease in the density of fixed bacteria (> 0.5 log/cm^2) in the chlorinated reactors operated at 1 hour of residence time. In both cases, no effects resulting from chlorination were observed in the reactors operated at a residence time of 15h. These results confirm that chlorination of biofilm on corroded surfaces is not an efficient short term strategy.

- The choice of material significantly influenced the densities of fixed biomass resulting from a level of nutrients. Polycarbonate reactors supported a much lower density of biofilm in the absence of corrosion than did corroded grey iron reactors. Moreover chlorination was very efficient in controlling biofilm densities (> 1 log/cm^2) in the 1h and the 15h residence time reactors.

The results from semi-controlled experiments were compared with those generated from full-scale distribution systems. Biomass densities in annular reactors were higher than those measured on full-scale distribution systems. The wide differences in surface to volume ratios between these two systems may be the source of this discrepancy. The presence of chlorine residual and variable hydraulic conditions in the DS may also lead to lower densities of fixed biomass in the full-scale DS.

Introduction

Drinking water distribution systems (DS) are known to be excellent bioreactors. Indeed, all essential elements of biological life and growth are present in DS. The wall of the water pipe is commonly colonized by bacteria passing through treatment stages. Although a small quantity of biodegradable organic matter (BOM) is found in drinking water distribution systems, it is enough to sustain a diversified bacteria biomass. These bacteria aggregate on the wall of the pipe in non-continuous, thin layers called biofilms which can lead to important water quality problems such as violation of coliform regulations and boiling notifications. Furthermore, large bacterial biomass may support a diversified biocenosis of annelids, protozoa and metazoa (Levy *et al.*, 1986). The interaction and accumulation of all these different species may generate odour and tastes problems, higher turbidities and microbial corrosion (LeChevallier *et al.* 1993). Finally, Payment *et al.* (1993) have suggested through epidemiological studies that drinking water from the tap may increase the risk of gastrointestinal illnesses by 30% even if the water meets all current drinking water standards and regulations.

Different approaches have been proposed to control regrowth of the biofilm in drinking water distribution systems. The easiest and most affordable way to limit bacterial regrowth is to maintain a residual concentration of oxidant throughout the system. This strategy may be successful in some instances, but a larger strategy including residual maintenance, corrosion control and nutrient limitation is most often required. There are limits to controlling biofilm by chlorination alone. Residual chlorine concentrations are difficult to maintain when pipes are corroded, chlorine is a poor biocide for biofilms and finally, excessive concentration of chlorination by-products are formed at higher dosages of chlorine.

The poor performance of chlorine in controlling bacterial populations and more specifically bacterial coliforms in drinking water systems has been established (Characklis et Marshall, 1990; Camper *et al.*, 1993, 1995a; LeChevallier *et al.*, 1987, 1988; Smith *et al.*, 1989; Reilly et Kippin, 1983, Mathieu *et al.*, 1995; Sibille *et al.*, 1995). It has also been shown, in some cases, that a low level dosage of chlorine may actually stimulate coliform regrowth in drinking water distribution systems. (Camper *et al.* 1993, 1995a,b).

Depriving bacterial biomass of substrate by reducing the quantity of biological organic matter (BOM) entering the DS constitutes an interesting approach. Reducing or eliminating BOM can be achieved by a number of treatment processes such as : coagulation - flocculation, biological filtration or membrane filtration. Biological filtration on GAC, also referred to as biological activated carbon (BAC) filtration, is an interesting approach to reduce BOM concentrations and can be implemented in existing treatment facilities. Upgrading existing first stage filters or adding a second step of BAC filtration will ensure the removal of most of the rapidly biodegradable carbon and some of the more slowly biodegradable organic substrates, depending on the design and operational conditions of these filters. Since it is fixed biomass upon GAC grains that removes the BOM, BAC filtration reduces the nutrient levels and restrains some of the regrowth to the treatment plant where it can be best controlled. High elimination of BOM and of bacteria before distribution to the population is possible through nanofiltration (Laurent 1995, Sibille 1995). Implementing nanofiltration is costly and a full conventional treatment file must precede the membrane process.

Servais *et al.* (1995) have shown that the concentration of BOM is the factor governing bacterial growth in DS. Based on experimental data and using a predictive model, they have shown that the use of chlorine residual will delay and somewhat limit the amount of suspended and fixed biomass in the DS. When nutrient levels are high, chlorination is not efficient in controlling fixed biomass densities. If this growth is limited in the DS, it may take place in service pipes, where environmental growth conditions are favourable (Prévost *et al.*, 1996).

The primary objective of this part of the study was to document the effect of biological filtration on regrowth in distribution systems at pilot and full-scale levels.

The project was conducted by members of the Industrial Chair on Drinking Water of the Civil Engineering Department of École Polytechnique of Montréal. Analytical monitoring was completed in the Chair's research laboratories. Data and samples were collected from the full-scale distribution systems (DS) of City of Laval and on annular reactors located in the St.Rose water treatment plant.

The research proposal included two sets of studies:

1) full-scale DS studies in which data were collected from the full-scale DS of City of Laval;
2) full-scale validation studies conducted on annular reactors.

The first study, using on-line coupon devices installed directly in valve chambers on the distribution systems was used to evaluate the effect of biological treatment and oxidant type on biofilm density and bacterial diversity in full-scale DS. The coupon devices were installed at various residence times on the three distribution systems of City of Laval, in order to evaluate the combined effects of nutrient loading and oxidant residual.

The second set of experiments was conducted in the St.Rose water treatment plant to evaluate the importance of biological treatment (BAC filtration) and chlorination on fixed biomass composition and density in annular reactors. By using annular reactors, we can control the hydraulic conditions and various other experimental parameters.

Results obtained in the annular reactors were then compared to those obtained in the full-scale distribution systems at similar residence times and under similar oxidation conditions.

Material and Methods

Experimental designs

Full-Scale Distribution Systems

City of Laval produces drinking water for more than 300 000 consumers and operates three water treatment plants. The treatment trains of these treatment plants are shown on Figure 3.1. The St.Rose treatment plant draws its water from the Mille-Iles River and the Pont Viau and Chomedey treatment plants draw their water from the DesPrairies River. Both rivers flow from the Deux-Montagnes Lake. The St.Rose plant (110 000 m^3/d) includes a full-scale first-stage sand-anthracite filtration, inter-ozonation and second stage BAC filtration. Chlorine dioxide is used as a secondary disinfectant, and the free chlorine dioxide residual leaving the plant varies between 0.02 and 0.27 mg ClO_2/l. The Chomedey treatment plant (180 000 m^3/d) is a conventional filtration plant with post-filtration ozonation. Chlorine or chlorine dioxide are used as a secondary disinfectant with free chlorine residual leaving the plant varying from 0.33 to 0.95 mg Cl_2/l . The Pont Viau treatment plant (135 000 m^3/d) is a conventional filtration plant with post-filtration ozonation followed by a post-disinfection with chlorine (between 0.31 and 0.82 mg Cl_2/l of free chlorine residual).

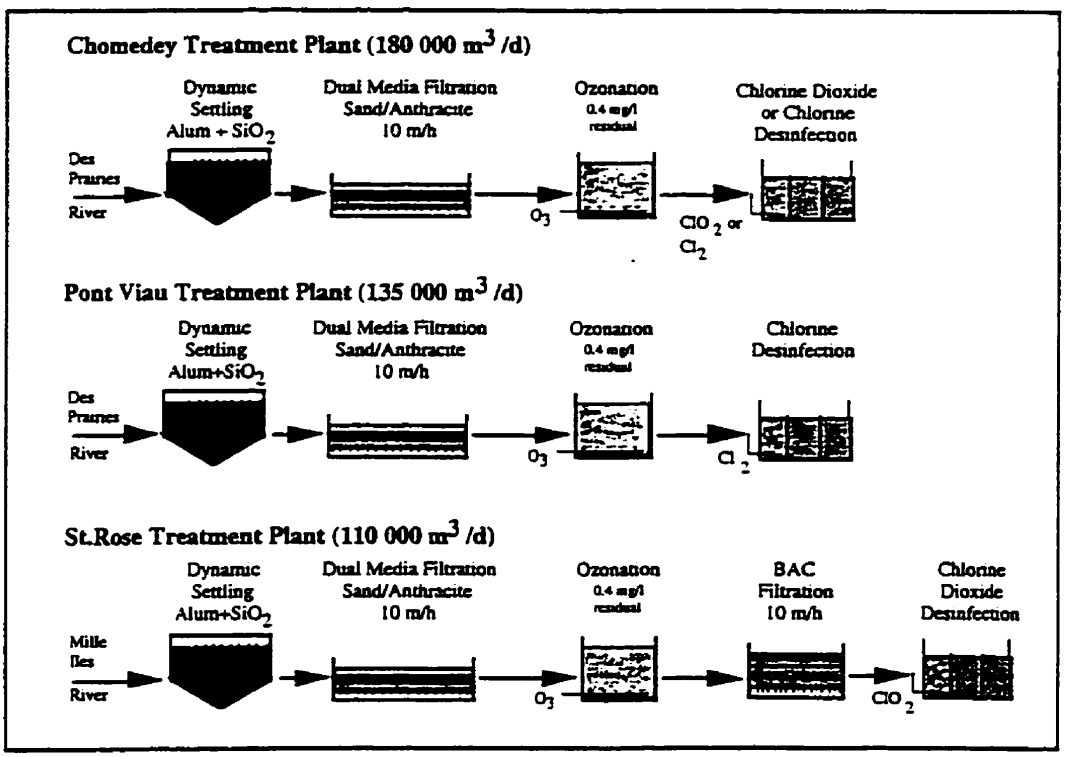


Figure 3.1 Treatment processes of the drinking water treatment plants of City of Laval

The three distribution systems fed by the three treatment plants are interconnected, but their areas of specific influence are well determined. Different pipe materials are found in the following proportions : 65% of grey iron, 26% of ductile iron, 6% of Hyprescon, 3% of steel and less than 1% of PVC. Although grey iron is not installed any longer, it represents the major material present in the system, especially for small diameter pipes where water quality problems most often occur.

The experimental design proposed for the full-scale experiment is presented in Figure 3.2. Samples were collected from the biofilm coupon devices installed on the three distribution systems of City of Laval (Québec, Canada). The device used to carry biofilm coupons directly on the DS and the manner in which these devices were installed in valve chambers are illustrated in Figure 3.3. Five coupon devices were installed on the St.Rose DS at residence times varying from 0h24 to 15h30, five others were installed on the Pont Viau DS at residence times varying from 0h18 to 13h54 and six coupon devices were installed on the Chomedey DS at residence time varying from 0h36 to 17h54. The average residence times were estimated with the PICCOLO software (SAFEGE, France) based on weighted average flow rates.

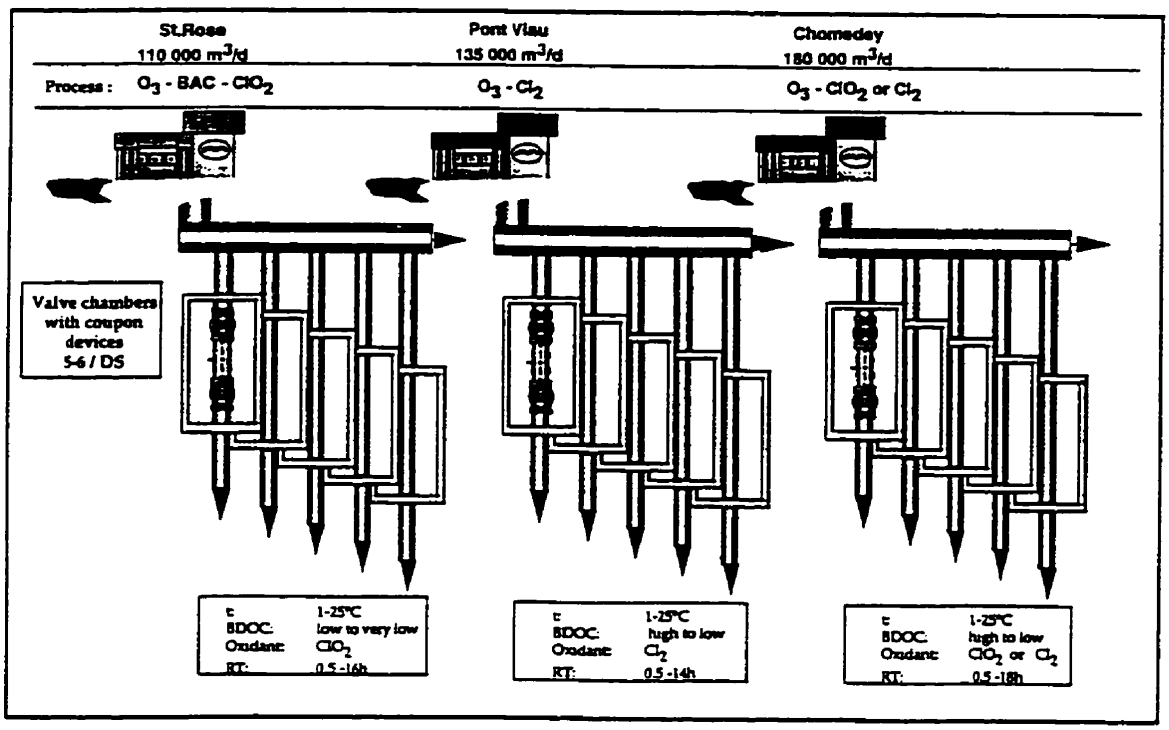


Figure 3.2 Experimental design of the full-scale coupon devices studies

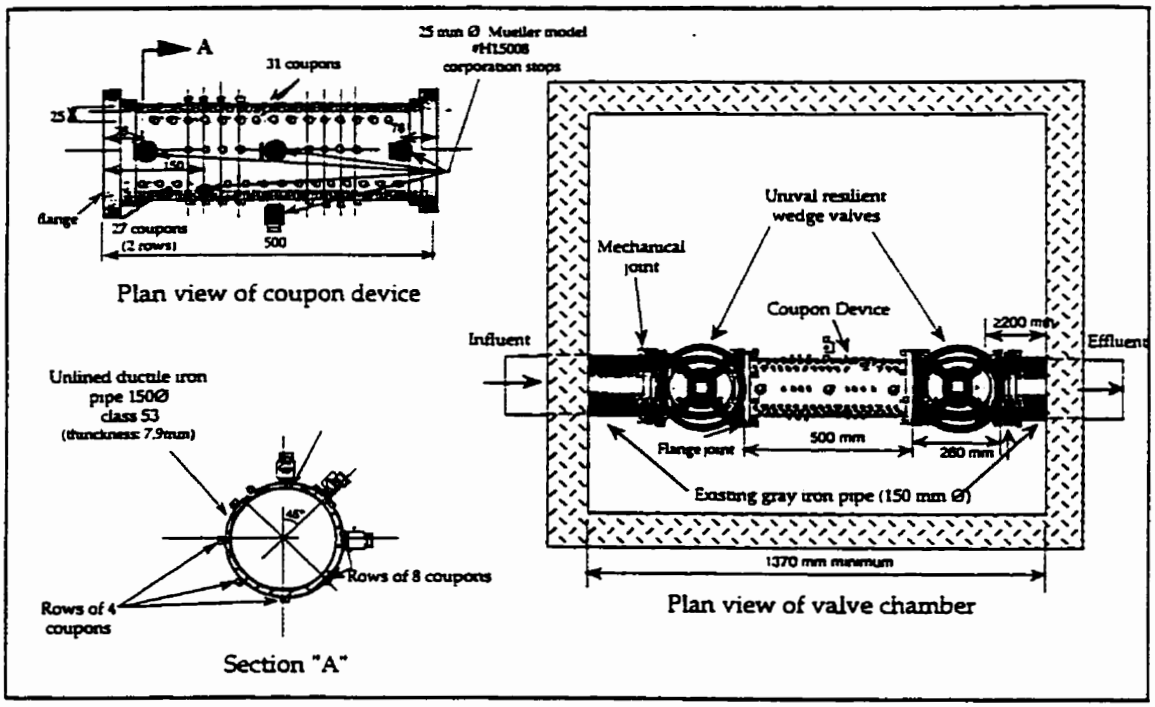


Figure 3.3 Diagram of valve chamber with details of the coupon device

Annular Reactors

The annular reactors were installed at the St.Rose water treatment plant (City of Laval, Québec, Canada). The experimental design used is presented in Figure 3.4. Eight grey iron reactors were operated in two trains of four, one group fed with full-scale ozonated water, the other fed with BAC filter effluent. All of the reactors were operated in series of two, with residence times of 1 and 15 hours (cumulative). Ozonated water contains high concentrations of BDOC and low concentrations of ammonia and phosphates, while BAC filtered water is considered biologically stable, containing lower BDOC levels and trace levels of ammonia and phosphates.

After 4 months of colonization during which the reactors were fed with oxidant free water, 4 of the 8 reactors were fed with a chlorinated feedwater. To maintain a similar chlorine residual reacting with the biofilm and with the corrosion by-products, chlorine dosages were adjusted to satisfy the water's short term chlorine demand. Ozonated water was chlorinated with 1.5 mg Cl_2/l residual while BAC filtered water was chlorinated with a residual of 1 mg Cl_2/l. The reactors were operated from January to July 1994. Following this initial experiment, the reactors were sand blasted, cleaned and a repeat experiment was initiated to validate the results of the first experiment.

A third experiment was conducted using three polycarbonate annular reactors installed at the Ste.Rose water treatment plant. All three reactors were fed with ozonated water. Two reactors were operated at a 1h residence time. The third reactor was operated in series (15 hours cumulative residence time). The two reactors in series were chlorinated after 116 days of colonization.

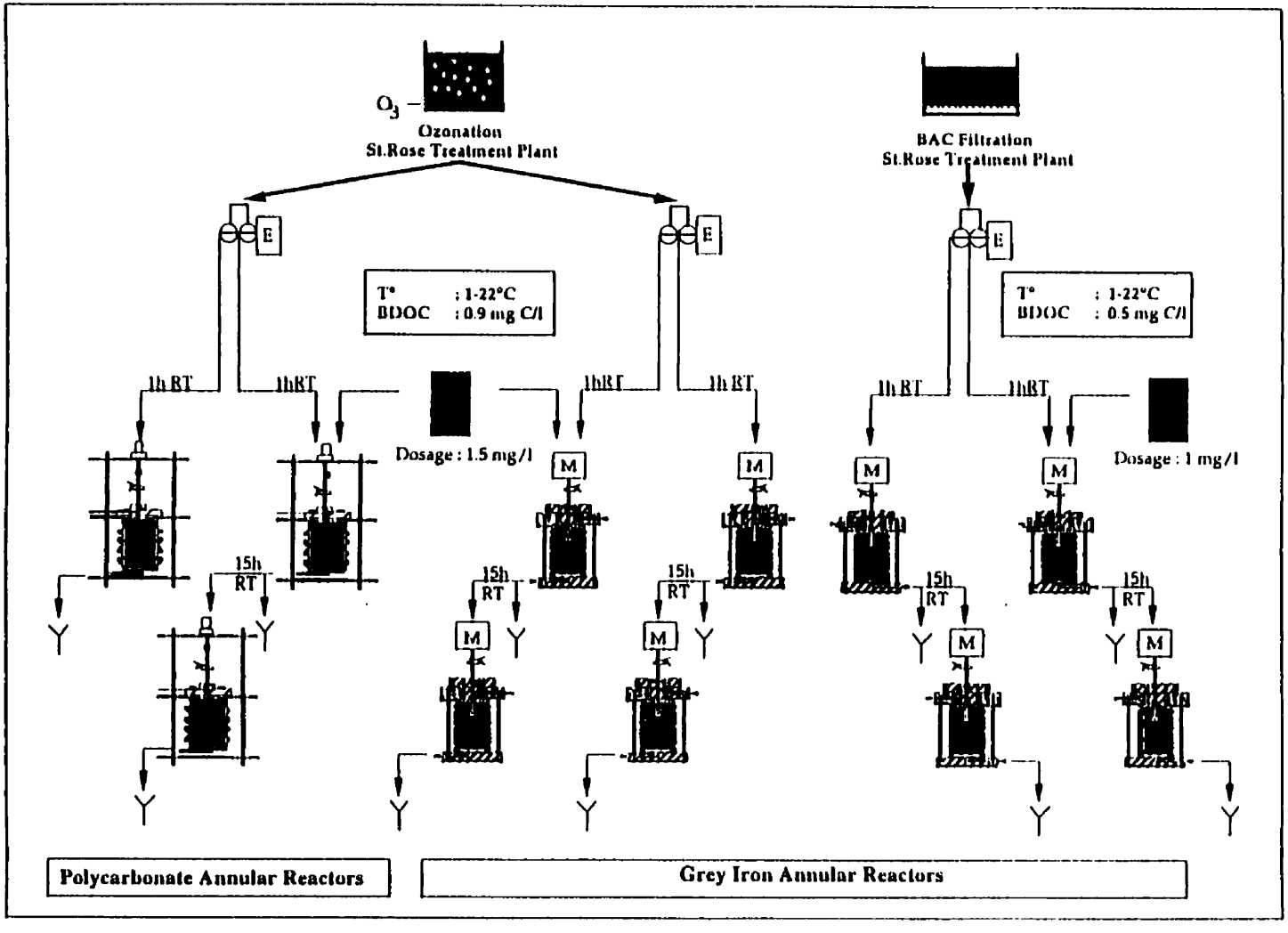


Figure 3.4 Experimental design to evaluate the importance of BAC filtration on fixed and suspended biomass density. St.Rose Water Treatment Plant

Analytical methods

Biofilm Biomass Densities

Biofilm densities in both DS and annular reactors were monitored using the potential exoproteolytic activity measurements (PEPA) (Somville and Billen, 1983; Laurent and Servais, 1995) and by enumerating HPC on R2A medium after scraping and homogenization of the biofilm (Camper *et al.*, 1985).

For the potential exoproteolytic activity measurements, three coupons were removed from each reactor, placed in mini-incubators and covered with 3 ml of influent water filtered on 0.2 µm. 75 µl of a 34 mM solution of L-leucyl-ß-Napthylamide (L-L-ßN) was then added in the mini-incubators. Liquid samples were removed at regular time intervals (10 min), from the incubators and the fluorescence of the ß-Naphthylamine (ßN) produced by the hydrolysis of the L-L-ßN was measured by a fluorometer coupled with a HPLC (Waters model 600E pump, 717+ auto sampler, and 470 detector). The fluorescence was measured at a emission wave length of 410 nm and at an excitation wave length of 340 nm. For each sampling campaign, the fluorometer was calibrated from a standard stock solution of 10^{-6}M of ßN. A graph of the fluorescence according to time was plotted and the slope of the line provides the potential exoproteolytic activity in terms of molar production of ßN by time unit. Fixed biomass density estimated by the PEPA method was then converted from µg C/cm^2 to bacteria/cm^2 using the conversion factor 20×10^{-15} g C/bacteria (Servais *et al.*, 1995).

Three other coupons were removed from the reactors for the R2A enumeration. Immediately after the sampling, the coupons were placed in mini-incubators and covered with 3 ml of influent water filtered on 0.2 µm to prevent biofilm drying during transport to the laboratory. The coupons and the water were taken out of the mini-incubators. The biofilm was then scraped from the coupon with a sharp blade knife and the volume was completed to 10 ml with 0.01% (w/vol) sterile pyrophosphate solution. The suspension was homogenized 30 sec. with a tissue homogenizer (Pro200, ProInstrument). Then, an appropriate dilution was spread plated on R2A media. The biofilm bacteria were enumerated after 7 days of incubation at 20°C.

Biofilm Bacteria Identification

One thousand isolates of biofilm bacteria that grew on R2A media were sent to AWWSCo to be identified by the MIDI System. Of the total, six hundred were isolated from the biofilms of the distribution systems of City of Laval and four hundred from the biofilms grown in the annular reactors. Of the slants isolated from the coupons installed on the DSs of City of Laval, 100 were taken from a sampling point close to the treatment plant (less than 1h residence time) and 100 from a sampling point far from the plant (more than 12h residence time) on each of the distribution systems. To investigate the effect of temperature changes on bacterial populations, half on the isolates were taken from coupons sampled in cold water and the other half from coupons sampled in warm water.

A similar strategy was followed for the identification of the bacteria from the biofilm in the grey iron annular reactors. 200 slants were isolated from the reactors operated at a short residence time (1 hour) and 200 were isolated from the reactors operated at higher residence time (15 hours cumulative) for both series of reactors (ozonated water and BAC filter effluent). Again, to investigate the effect of temperature changes on bacterial populations in the annular reactors, half of the isolates were taken from coupons sampled in cold water and the other half from coupons sampled in warm water.

The MIDI Microbial Identification System is based on the determination of cellular fatty acid composition by gas chromatography.

Planktonic Cells

Bulk liquid bacterial numbers were determined by epifluorescence microscopy following acridine orange staining using the procedure of Hobbie *et al.* (1977). Immediately after sampling, aliquots of water were fixed with 2% formaldehyde (vol/vol). Appropriate dilutions were then

filtered onto 25 mm diameter (0.22 µm pore size) black polycarbonate membranes (Nuclepore) and stained 2 minutes with 1ml of a 0.01% (w/vol) acridine orange solution.

Physico-chemical Parameters

Other measurements included biodegradable organic carbon (BDOC) and dissolved organic carbon (DOC) (Servais *et al.*, 1987, 1989), temperature, pH and oxidant residual. The BDOC was evaluated using an inoculum from the treatment plant raw water. The inoculated samples were incubated for 28 days at 20°C. The BDOC was determined from the difference between initial (before incubation) and incubated DOC values. DOC and TOC values were determined using a Dohrmann DC180 TOC analyzer.

Chlorine residual was measured by using the DPD colorimetric method (APHA, 1992) and chlorine dioxide residual by using the ACVK colorimetric method (Masschelein *et al.*, 1989).

Statistical Analyses

Statistical analyses were performed with the software StatView on a Macintosh computer.

Results and discussion

Full-scale Experiments

For the purpose of this study, 12 sampling campaigns were carried out on full-scale distribution systems in City of Laval from January 93 to July 94. Results are summarized in Tables 3.1, 3.2 and 3.3 for fixed and suspended biomass, BDOC, disinfectant residuals and temperature. Figures 3.5 (Pont Viau DS), 3.6 (St.Rose DS) and 3.7 (Chomedey DS) show the bacterial densities measured by the PEPA method and by the HPC enumeration.

Interesting trends can be observed in the results from the Pont Viau DS (Figure 3.5). New coupon bearing pipes were installed in late fall 1993 (at 4 and 8.7 hours of residence time), roughly one year after the first coupons were installed (at 0.5, 6.4 and 14 hours of residence time). The new coupons were only sampled once on March 15,1994. Lower densities of fixed biomass were found than expected on these newer coupons. This discrepancy was more noticeable when the HPC enumeration technique was used. Corrosion on these new coupons after 4 months of on-line use was not as pronounced as on the older coupons after 16 months of on-line use. It is believed that the amount of corrosion by-products present in the biofilm was probably a significant factor influencing the biofilm density. If this is the case, the time to reach pseudo steady-state levels of biofilm may be in the order of months to perhaps a year in the case of metal coupons.

Constant trends in biofilm densities with increasing residence times could not be established for all of the sampling campaigns. Nevertheless, it was generally observed that biofilm densities were lower at points closer to the treatment plant and increased with residence time. This was consistent whatever the method used to evaluate the density of fixed biomass. Increasing temperatures did not consistently translate into higher densities of fixed bacteria. This may be the result of confounding factors. When the water temperature increased, chlorine residuals leaving the plant were also increased in order to counteract the higher kinetics of chlorine demand from both the water and the piping materials. The density of fixed biomass would have been greater in warm water had it not been due to the increase in chlorine residual.

For the St.Rose (Figure 3.6) and Chomedey (Figure 3.7) DSs, the trends were clearer than for the Pont Viau DS. Higher densities were measured in warm water in both systems, whatever the measurement method used. Longer colonization times may account, in part, for these higher densities. There was a large difference (1-2 log/cm^2) in levels of biomass measured by the PEPA and the HPC-scraping methods. In cold water, lower densities of fixed biomass were measured at short residence time by the HPC-scraping and PEPA methods. Very low densities were measured in winter at the point located near the Pont Viau treatment plant. This could have been the result of the effect of free residual disinfectant on culturability, oxidant residuals being more stable in cold water. The results in warm water suggest that maximum densities of fixed biomass measured in DS were similar in DS fed with conventional or biological treatment whatever the measurement technique used. In the absence of a measurable disinfectant residual (case of St.Rose), densities follow a bell curve with maximum values occurring around 7 hours of residence time. This is in accordance with results obtained in predictive modelling of BDOC utilization and biomass growth using the SANCHO model (Laurent, 1995).

In warm water and in the presence of residual disinfectant (Chomedey DS), such a curve is not observed and high densities are already observed at 0.6 hours of RT. It is interesting to note that for both DS, biomass densities peaked in the front ends of the DSs.

Trends in suspended bacteria counts can be seen from the results of direct epifluorescence enumerations. Suspended bacteria counts followed the densities of fixed bacteria and were closely related to fixed biomass densities in the St.Rose DS. This is in concordance with expected trends. An example of modelling results using SANCHO (Servais *et al.*, 1994, 1996) is shown in Figure 3.8 in the absence of chlorine and in Figure 3.9 in the presence of chlorine. Peaks of suspended biomass are expected to occur downstream of fixed biomass peaks since the major contributor to suspended bacteria is detachment from the biofilm. In the presence of residual chlorine,

Table 3.1 Results from the sampling campaigns on the Pont Viau distribution system

Date of Sampling	Average residence time	Residual Desinfectant (mg Cl_2/l)	Temperature (°C)	BDOC (mg C/l)	Planktonic cells (cells/ml)	Fixed Biomass		
						Scraping	EPA	
						(CFU/cm²)	(µg C/cm²)	(cells/cm²)
01/12/93	0h (Plant)	0.27	1.0	0.47	1.24E+04	-	-	-
	0h18	0.25	1.0	0.85	2.74E+04	7.47E+03	-	-
	6h24	0.10	1.1	0.56	9.01E+04	1.54E+03	0.005	2.26E+05
	13h54	<0.09	2.6	0.65	1.35E+05	1.36E+04	0.009	4.42E+05
05/04/93	0h (Plant)	0.44	8.6	0.62	1.24E+04	-	-	-
	0h18	0.35	8.4	0.49	2.74E+04	1.50E+04	-	-
	6h24	0.10	8.3	0.61	9.01E+04	5.20E+03	-	-
	13h54	<0.09	8.2	0.37	1.35E+05	2.50E+03	-	-
05/18/93	0h (Plant)	0.38	13.5	0.82	1.24E+04	-	-	-
	0h18	0.34	13.3	0.62	2.74E+04	5.89E+03	-	-
	6h24	0.12	12.8	0.67	9.01E+04	2.49E+05	0.027	1.35E+06
	13h54	<0.09	10.9	0.38	1.35E+05	1.39E+05	0.420	2.10E+07
06/29/93	0h (Plant)	0.83	23.1	0.83	1.24E+04	-	-	-
	0h18	0.63	22.8	0.63	2.74E+04	8.23E+02	0.070	3.50E+06
	6h24	0.18	22.0	0.56	9.01E+04	2.18E+04	0.090	4.50E+06
	13h54	<0.09	20.1	0.40	1.35E+05	2.39E+03	0.430	2.15E+07
10/13/93	0h (Plant)	0.47	9.6	0.44	1.24E+04	-	-	-
	0h18	0.38	9.8	0.60	2.74E+04	2.40E+03	0.020	1.00E+06
	6h24	<0.09	11.6	0.43	9.01E+04	3.10E+05	0.144	7.20E+06
	13h54	<0.09	13.1	0.45	1.35E+05	5.80E+05	0.068	3.40E+06
11/23/93	0h (Plant)	0.35	4.0	0.43	1.24E+04	-	-	-
	0h18	0.32	-	0.44	2.74E+04	-	0.025	1.25E+06
	6h24	<0.09	-	0.49	9.01E+04	-	0.139	6.95E+06
	13h54	<0.09	-	0.06	1.35E+05	-	0.131	6.55E+06

(continued...)

Table 3.1 (continued) Results from the sampling campaigns on the Pont Viau distribution system

Date of Sampling	Average residence time	Residual Desinfectant (mg Cl_2/l)	Temperature (°C)	BDOC (mg C/l)	Planktonic cells (cells/ml)	Fixed Biomass		
						Scraping (CFU/cm²)	EPA (µg C/cm²)	EPA (cells/cm²)
03/15/94	0h (Plant)	0.40	0.0	0.56	8.17E+04	-	-	-
	0h18	0.40	0.7	0.63	1.12E+05	3.94E+05	0.028	1.40E+06
	4h00	0.31	0.8	0.56	1.29E+05	1.92E+04	0.008	4.00E+05
	6h24	0.21	1.0	0.51	1.27E+05	2.66E+05	0.010	5.00E+05
	8h42	<0.09	0.9	0.60	1.90E+05	6.03E+04	0.028	1.40E+06
	13h54	<0.09	2.0	0.43	2.72E+05	3.88E+05	0.942	4.71E+07

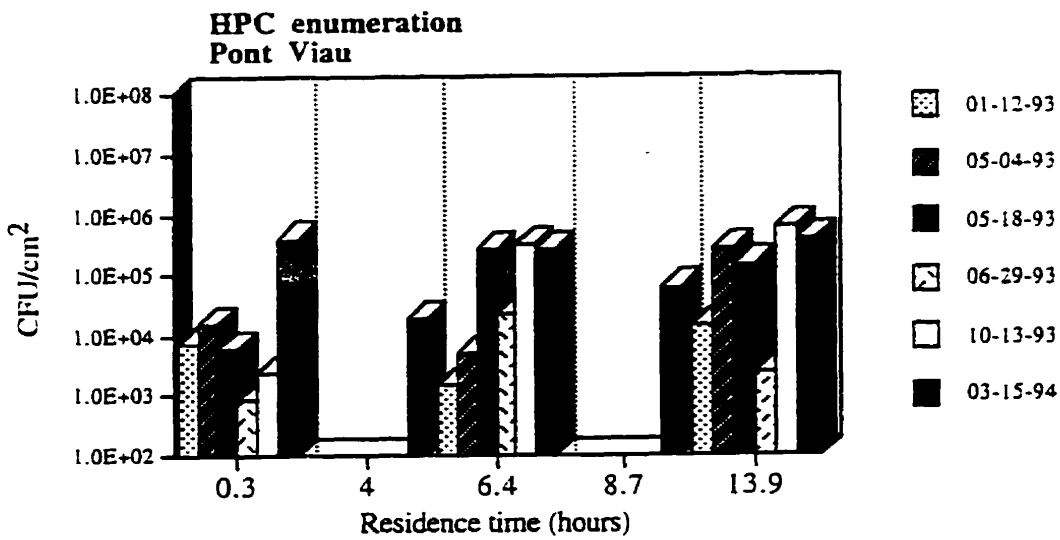
Table 3.2 Results from the sampling campaigns on St.Rose distribution system

Date of Sampling	Average residence time	Residual Desinfectant (mg ClO_2/l)	Temperature (°C)	BDOC (mg C/l)	Planktonic cells (cells/ml)	Fixed Biomass		
						Scraping (CFU/cm²)	EPA (µg C/cm²)	EPA (cells/cm²)
03/02/94	0h (Plant)	<0.05	-	0.65	5.40E+04	-	-	-
	0h24	-	-	0.53	6.24E+04	-	0.011	5.63E+05
	7h18	-	-	0.56	8.26E+04	1.69E+04	0.087	4.34E+06
	9h00	-	-	0.77	8.26E+04	1.03E+04	0.013	6.30E+05
	15h30	-	-	0.70	8.56E+04	5.53E+05	0.035	1.76E+06
07/06/94	0h (Plant)	0.16	23.0	0.24	1.69E+05	-	-	-
	0h24	<0.05	20.6	0.14	2.67E+05	1.78E+06	0.126	6.29E+06
	7h18	<0.05	20.9	0.26	4.60E+05	6.25E+06	1.450	7.25E+07
	8h30	<0.05	19.2	0.16	3.16E+05	1.16E+06	0.416	2.08E+07
	9h00	<0.05	18.1	0.15	3.23E+05	1.01E+06	0.224	1.12E+07
	15h30	<0.05	16.8	0.14	-	1.47E+06	0.280	1.40E+07

Table 3.3 Results from the sampling campaigns on Chomedey distribution system

Date of Sampling	Average residence time	Residual Desinfectant (mg ClO_2/l) (or mg Cl_2/l*)	Temperature (°C)	BDOC (mg C/l)	Planktonic cells (cells/ml)	Fixed Biomass		
						Scraping (CFU/cm²)	EPA (µg C/cm²)	EPA (cells/cm²)
02/25/93	0h (Plant)	-	-	0.76	7.84E+04	-	-	-
	0h36	-	-	0.69	6.14E+04	-	-	-
	2h54	-	-	-	-	-	-	-
	7h00	-	-	0.52	9.61E+04	1.11E+04	0.017	8.35E+05
	13h54	-	-	0.67	9.04E+04	2.31E+05	0.025	1.27E+06
	16h54	-	-	0.57	9.16E+04	-	-	-
	17h54	-	-	0.50	1.14E+05	2.36E+03	0.047	2.37E+06
03/23/93	0h (Plant)	0.08	1.0	0.31	1.75E+05	-	-	-
	0h36	-	0.9	0.42	1.49E+05	1.06E+04	0.003	1.55E+05
	2h54	-	2.7	0.42	2.16E+05	1.24E+05	0.009	4.60E+05
	7h00	-	1.3	0.37	2.34E+05	1.14E+05	0.010	5.00E+05
	13h54	-	2.0	0.19	2.67E+05	7.96E+04	0.022	1.10E+06
	16h54	-	1.4	0.31	2.54E+05	2.65E+04	0.060	3.00E+06
	17h54	-	1.4	0.25	2.60E+05	1.69E+05	0.013	6.50E+05
7/13/94*	0h (Plant)	0.74	24.0	0.53	2.11E+05	-	-	-
	0h36	0.18	22.4	<0.10	3.73E+05	3.63E+06	0.200	1.00E+07
	2h54	<0.09	19.5	<0.10	3.70E+05	5.22E+06	0.298	1.49E+07
	7h00	<0.09	20.6	<0.10	4.10E+05	5.93E+06	0.758	3.79E+07
	13h54	<0.09	20.1	<0.10	4.80E+05	1.78E+06	0.276	1.38E+07
	16h54	0.21	20.8	<0.10	4.39E+05	3.58E+06	0.159	7.93E+06
	17h54	<0.09	19.1	<0.10	2.46E+05	1.09E+06	0.448	2.24E+07

* During summer, Cl_2 is used as the final disinfectant



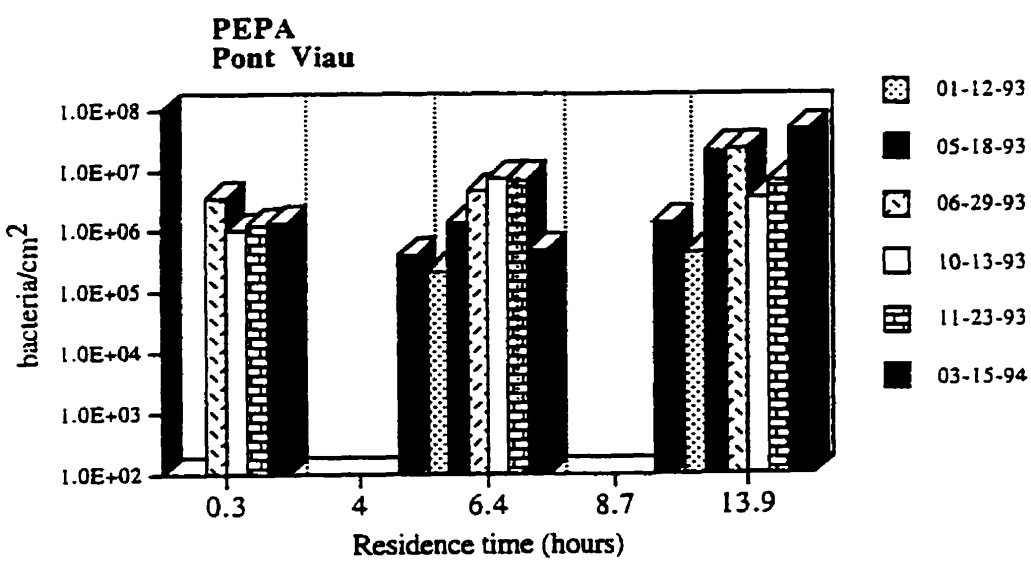


Figure 3.5 Densities of fixed bacteria in the Pont Viau distribution system

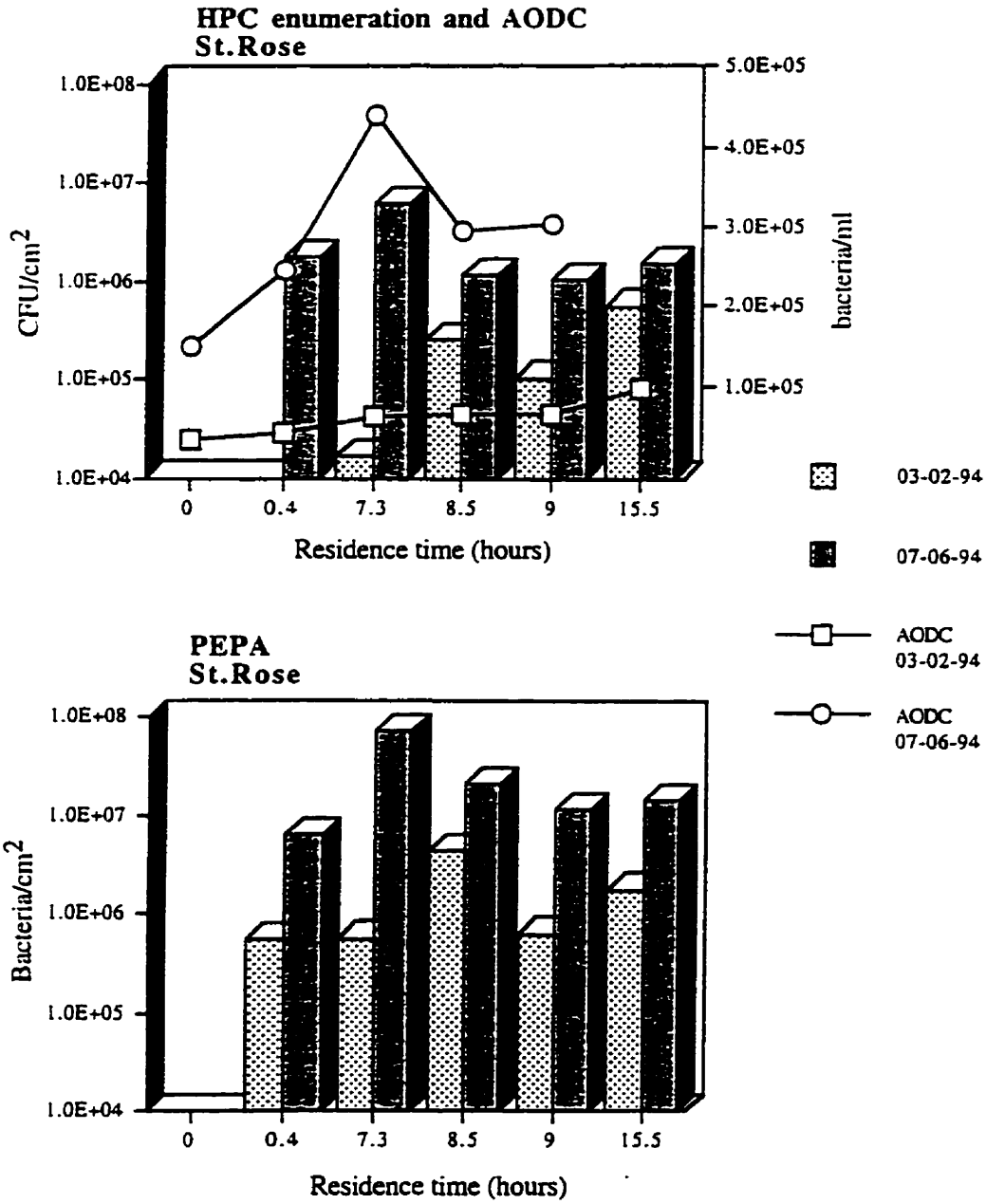


Figure 3.6 Bacterial densities (suspended and fixed bacteria) in the St.Rose distribution system

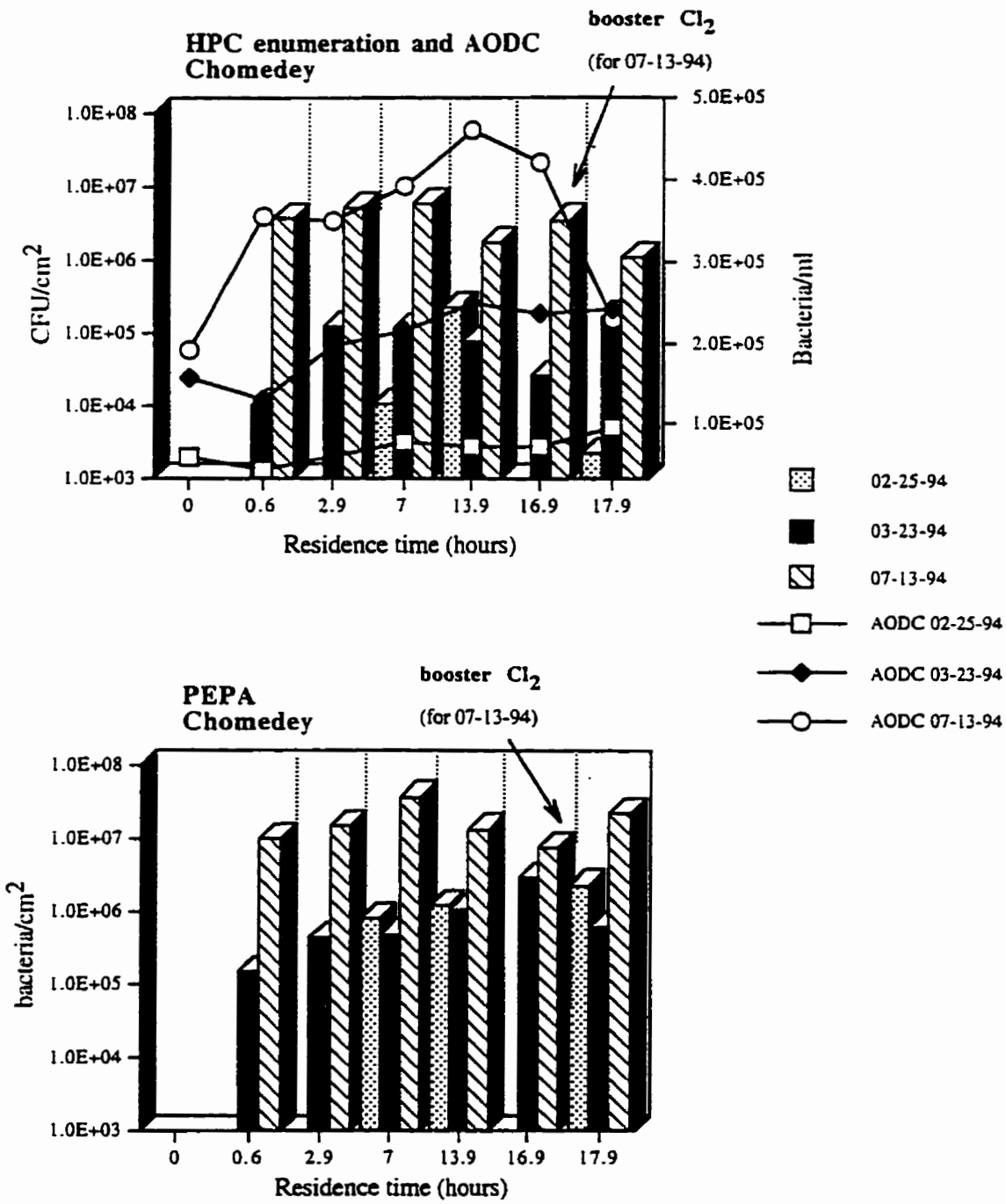


Figure 3.7 Bacterial densities (suspended and fixed bacteria) in the Chomedey distribution system

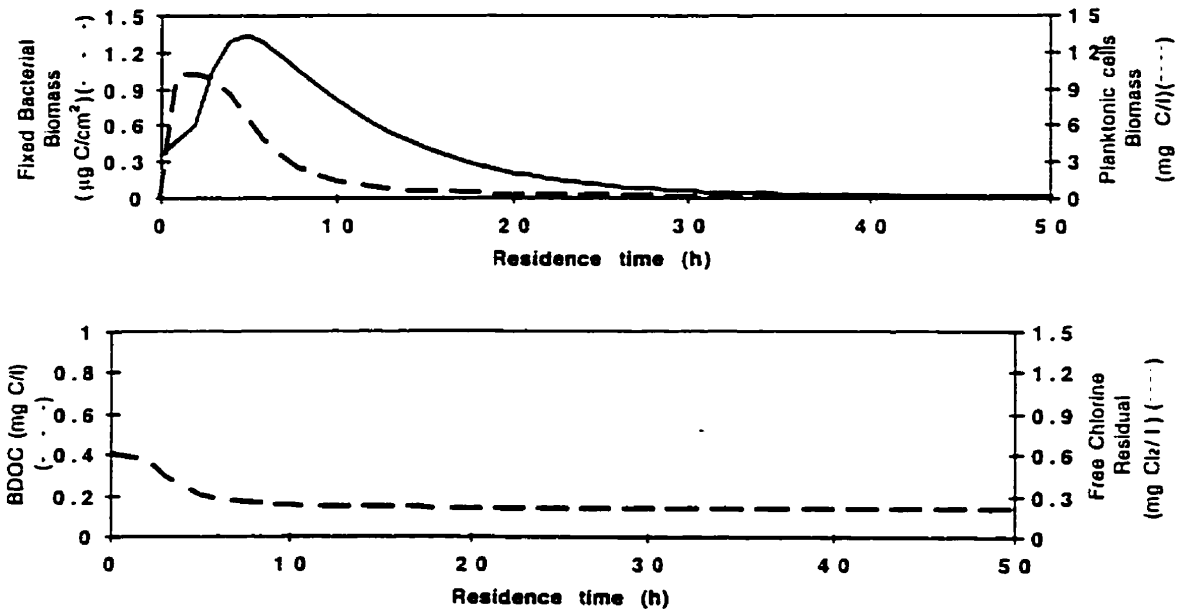


Figure 3.8 Evolution of fixed and suspended biomass and BDOC in function of residence time in a model DS using the SANCHO model in the absence of chlorine residual

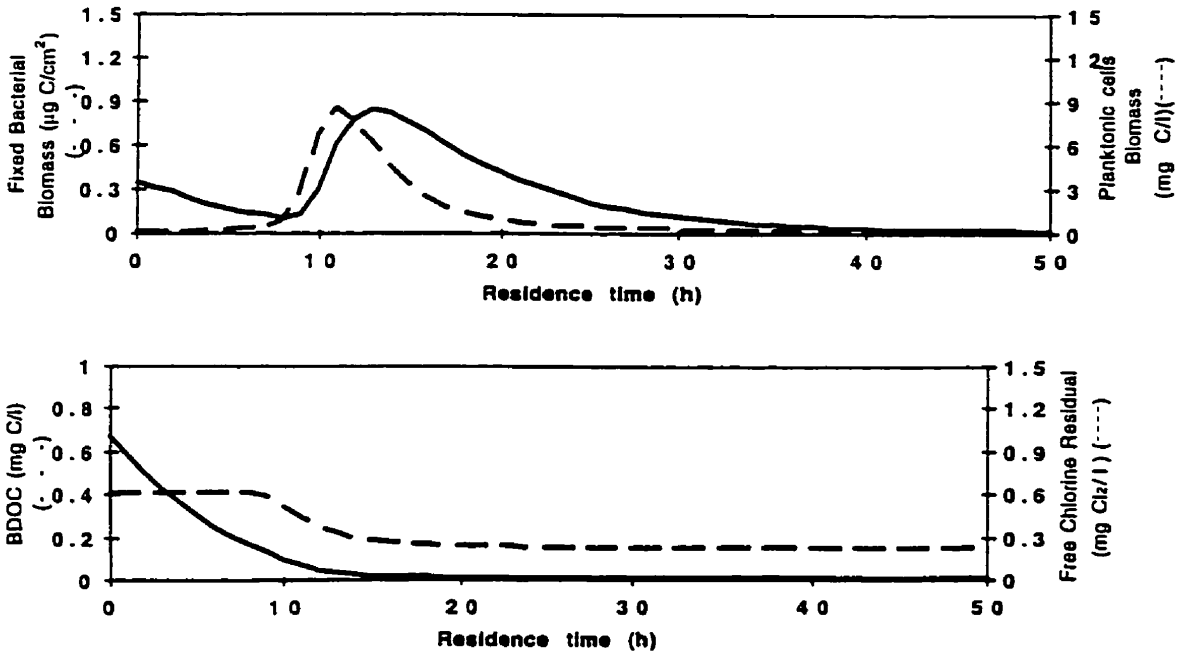


Figure 3.9 Evolution of fixed and suspended biomass, BDOC and chlorine residual in function of residence time in a model DS using the SANCHO model

the number of suspended bacteria is also influenced by the effect of oxidant on mortality. If the concentrations of residual chlorine are low, the effect is not pronounced, as illustrated by the high levels of suspended bacteria in the Chomedey DS. Increasing the chlorine residuals from a non detectable level (< 0.09 mg/l Cl_2) to 0.21 mg/l by a rechlorination station caused a marked decrease (around 50%) of the number of suspended bacteria.

Identification of bacterial isolates from the Laval full-scale DS

Identifying the bacterial populations present in the biofilm may bring an additional insight into the effects of biological treatment. The other biofilm measurement techniques used in our studies yield information on the heterotrophic population, the culturable fraction by HPC and the enzymatically active bacteria by PEPA. While small differences in the total viable biomass may be observed, significant differences in the activity or in the composition of the fixed bacterial biomass may result from biological treatment.

Fatty acid profiles of the environmental isolates grown on R2A medium served as the basis for identification by the MIDI systems equipped with a database of bacteria grown on R2A. Since positive identification was not always possible, additional genus grouping was achieved through comparison charts and 2D plots with the unidentified isolates. While they may not be the actual identification, the grouping gives relatively good information about the probability of the isolate being part of the genus.

Most of the environmental isolates from the full-scale DS (> 83%) were identified directly or by genus grouping using the MIDI systems. Table 3.4 shows the distribution of Gram+ and Gram- of the full-scale DS isolates according to residence time and water temperature. The first observation is that a preponderance of Gram+ organisms is observed in cold water, at least near the treatment plant. In warm water, the trend is reversed with most of the identified isolates being Gram- organisms. This preponderance decreases with residence time, Gram- bacteria constituting most of the species in the biofilm at high residence times. These general trends are common to the two types of DS studied: the St. Rose DS fed by a treatment train including biological treatment (low nutrient) and post-disinfection using ClO_2, and the Pont Viau and Chomedey DSs, both fed by plants using ozonation as the final treatment step before post-disinfection with Cl_2 or ClO_2 (nutrient rich).

Some differences can be seen between these two types of DSs. The proportion of Gram- bacteria in warm and cold waters is higher in the St.Rose DS at a residence time of 1 hour. Two factors differentiate the St.Rose DS from the two other DSs in warm water: the nutrient levels and the type of oxidant. Based on the full-scale data, it is not possible to distinguish between the effects of these factors. In cold water, the Chomedey treatment plant switches to ClO_2 as the final disinfectant. It may be noted that Gram- appear to dominate the speciation when chlorine dioxide is used as the final disinfectant (St.Rose in warm and cold waters and Chomedey in cold water).

A compilation of the bacterial genus identified in the full-scale DSs is presented in Table 3.5. Although some differences in speciation between the Pont Viau and Chomedy DSs are observed, a clear trend emerges between the nutrient rich (Pont Viau and Chomedey DSs) and the nutrient poor (St.Rose) speciations. Bacteria of the genus *Micrococcus* and *Bacillus* constitute most of the Gram+ bacteria of the nutrient rich DS. In the St.Rose DS, these genus are present in lower numbers and constitute a smaller fraction of the total Gram+ population. Some differences in speciation are perceived for Gram- bacteria. A more numerous and diversified population is observed in the St.Rose (nutrient poor) DS. The two full-scale nutrient rich DSs are quite different in Gram- speciation. The Chomedey DS has a well diversified population whereas the Pont Viau DS is dominated by *Acidovorax*.

Table 3.4 Proportion of the Gram+ and Gram- bacteria isolated from the coupon devices installed on the City of Laval distribution systems

Distribution	COLD WATER				WARM WATER			
Systems	*Point < 1h Rt*		*Point > 12h Rt*		*Point < 1h Rt*		*Point > 12h Rt*	
	Gram +	*Gram-*	*Gram +*	*Gram-*	*Gram +*	*Gram-*	*Gram +*	*Gram-*
St.Rose	66.0%	34.0%	34.8%	63.2%	22.0%	78.0%	10.2%	82.8%
Pont Viau	74.5%	15.7%	47.9%	52.1%	52.0%	48.0%	40.0%	60.0%
Chomedey	92.0%	8.0%	37.8%	62.2%	14.0%	86.0%	20.4%	79.6%

Trends can be more easily seen by studying Figures 3.10 to 3.21 showing the distribution of the bacterial populations identified with the MIDI systems for the three distribution systems studied. In general, populations from the Pont Viau and Chomedy DSs are more diversified in warm water than in cold water and diversity increases with residence time. The opposite trend is shown by the data of the St.Rose DS. These trends in diversity may reflect changes in oxidant dosages at the plants and oxidant residuals in the DSs. In the summer, both the Chomedey and Pont Viau DS are in most areas residual free. In cold water, chlorine residuals are maintained far in the DS. The case of the St.Rose DS is different, much larger ClO_2 dosages are applied at the treatment plant to counteract the faster kinetics of chlorine demand in warm water. Larger residuals actually enter the DS during the summer period.

Caution must be taken in emitting hypotheses to interpret the data. MIDI identifications are influenced by the metabolic state of the bacteria and mostly, directly influenced by our ability to isolate bacteria from the biofilm samples. The fatty acid profile method used during this project requires a step of plate culture on R2A. The type of oxidant (Cl_2 versus ClO_2) and the level of nutrient will impact on the culturability of the bacteria sampled from the biofilm. The water temperature constitutes a very influential factor in determining the percentage of recovery, with lower recoveries being expected when the biofilm is sampled in very cold temperatures (1°C). It is therefore possible that the shifts in populations observed reflect changes in the ability of bacteria to be cultured rather than changes in populations. Only with a direct method of bacterial identification could the shifts be confirmed.

Table 3.5 Compilation of the bacterial genus identified in the annular reactors and in the distribution system of City of Laval

BACTERIAL GENUS	GRAM ID	DISTRIBUTION SYSTEMS			ANNULAR REACTORS		TOTAL
		St.Rose	Pont Viau	Chomedey	BAC	O3	
Micrococcus	+	10	40	35	33	22	140
Bacillus	+	21	33	26	14	4	98
Enterococcus	+	2	6	2	3	1	14
Microbacterium	+	13	1	-	-	-	14
Staphylococcus	+	4	2	5	1	2	14
Rhodococcus	+	4	-	5	-	-	9
Arthrobacter	+	-	2	2	-	-	4
Nocardia	+	2	1	-	-	-	3
Corynebacterium	+	1	1	-	-	-	2
Brevibacterium	+	-	-	1	-	-	1
Deinococcus	+	1	-	-	-	-	1
Acidovorax	-	17	39	15	49	57	177
Alcaligenes	-	39	-	21	20	28	108
Pseudomonas	-	20	9	18	32	33	112
Aquaspirillum	-	7	-	18	12	14	51
Hydrogenophaga	-	4	8	10	12	3	37
Sphingomonas	-	8	2	10	3	1	24
Methylobacterium	-	1	10	9	2	11	33
Flavobacterium	-	11	4	1	-	-	16
Xanthobacter	-	1	1	3	2	3	10
Xanthomonas	-	5	2	1	-	1	9
Acinetobacter	-	2	4	-	-	1	7
Moraxella	-	3	3	1	-	-	7
Azospirillum	-	1	-	2	-	-	3
Comamonas	-	-	-	-	2	1	3
Paracoccus	-	2	-	-	-	-	2
Phyllobacterium	-	1	-	1	-	-	2
Chromobacterium	-	1	-	-	-	-	1
Enterobacter	-	-	-	-	-	1	1
Unidentified		14	28	8	9	7	66
Total		195	196	194	194	190	969

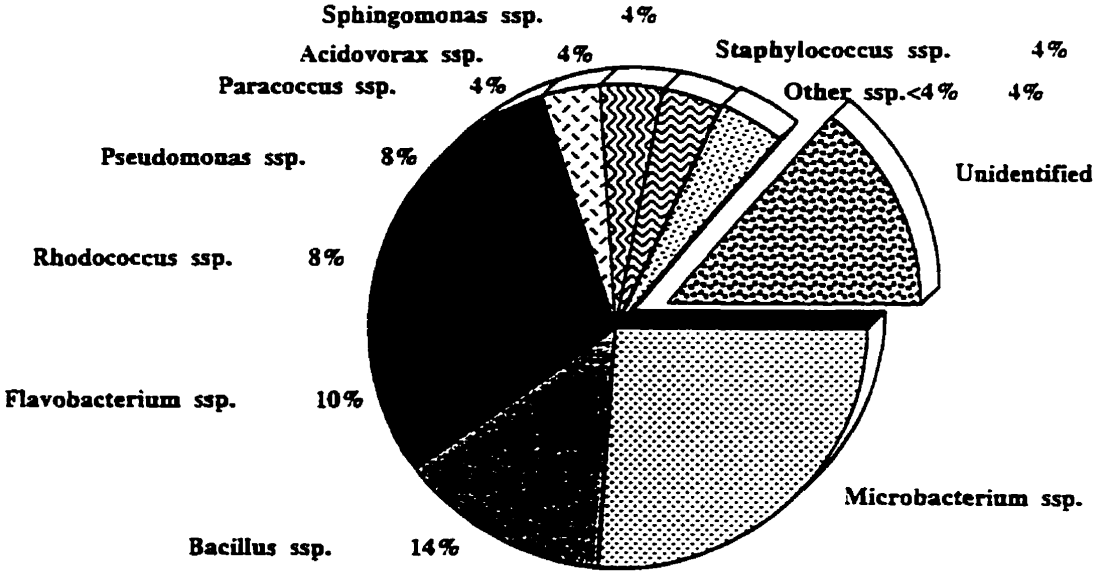


Figure 3.10 Bacterial populations isolated from the St.Rose distribution system at a short residence time (> 1h) in cold water

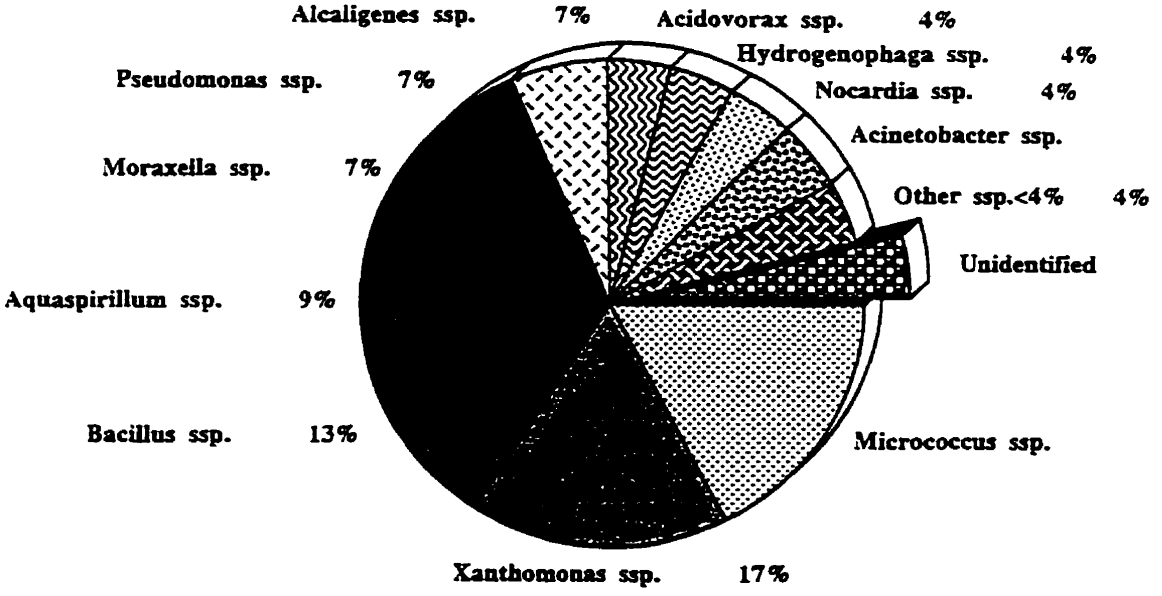


Figure 3.11 Bacterial populations isolated from the St.Rose distribution system at a high residence time (15h30) in cold water

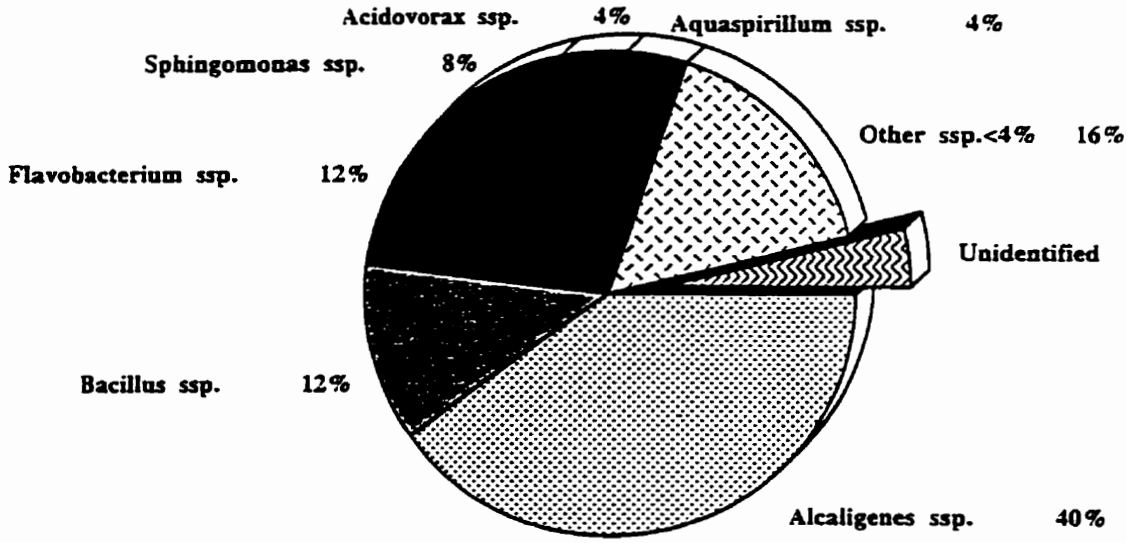


Figure 3.12 Bacterial populations isolated from the St.Rose distribution system at a short residence time (> 1h) in warm water

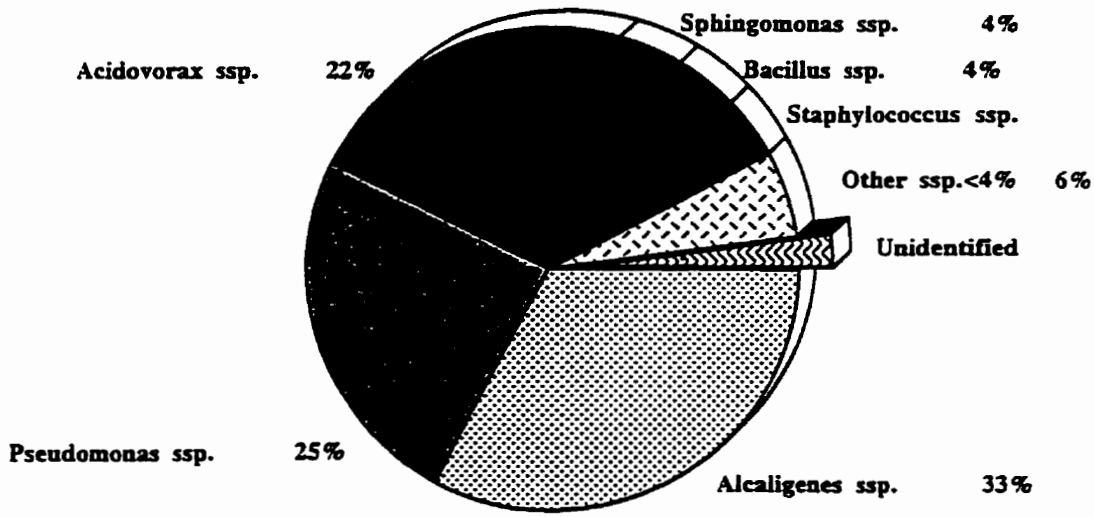


Figure 3.13 Bacterial populations isolated from the St.Rose distribution system at a high residence time (15h30) in warm water

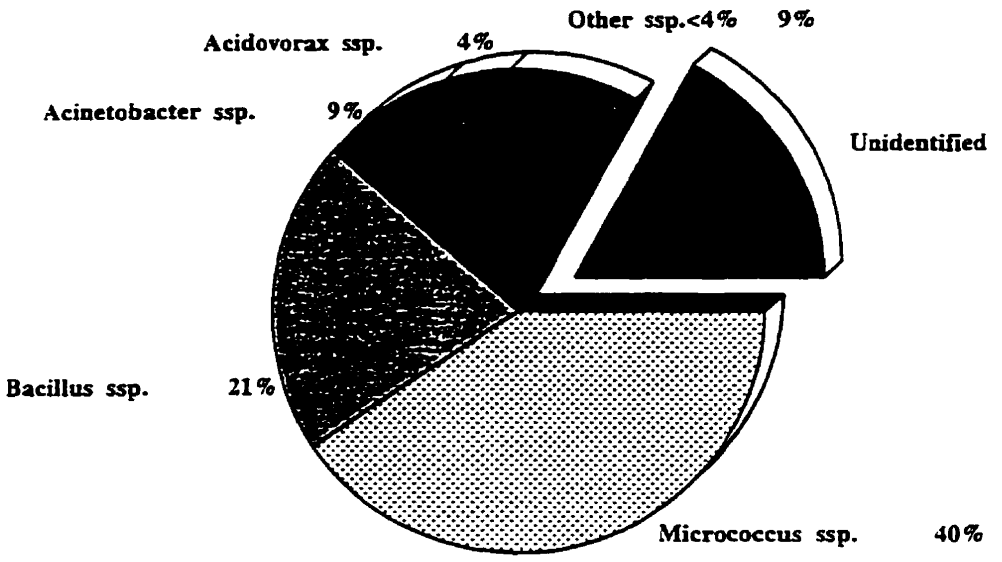


Figure 3.14 Bacterial populations isolated from the Pont Viau distribution system at a short residence time (> 1h) in cold water

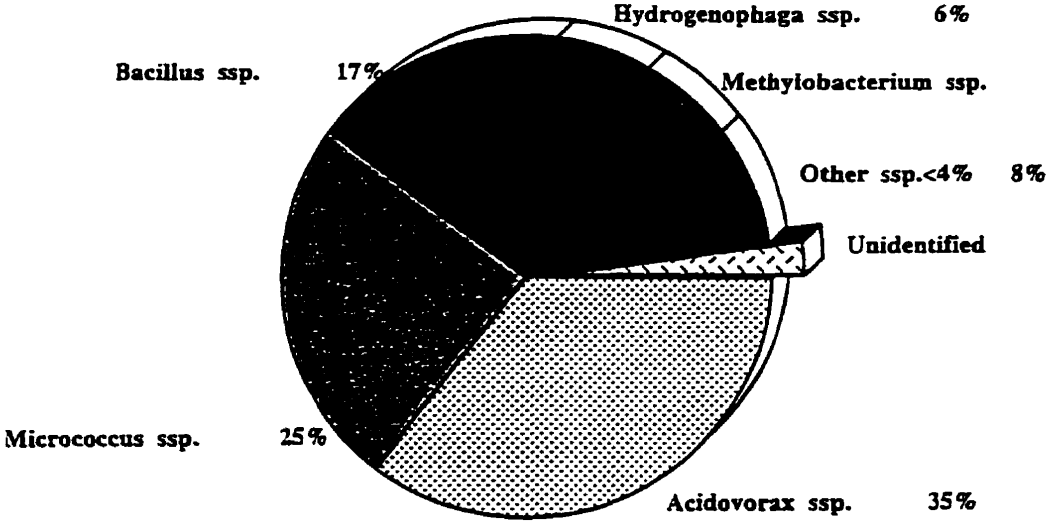


Figure 3.15 Bacterial populations isolated from the Pont Viau distribution system at a high residence time (14h) in cold water

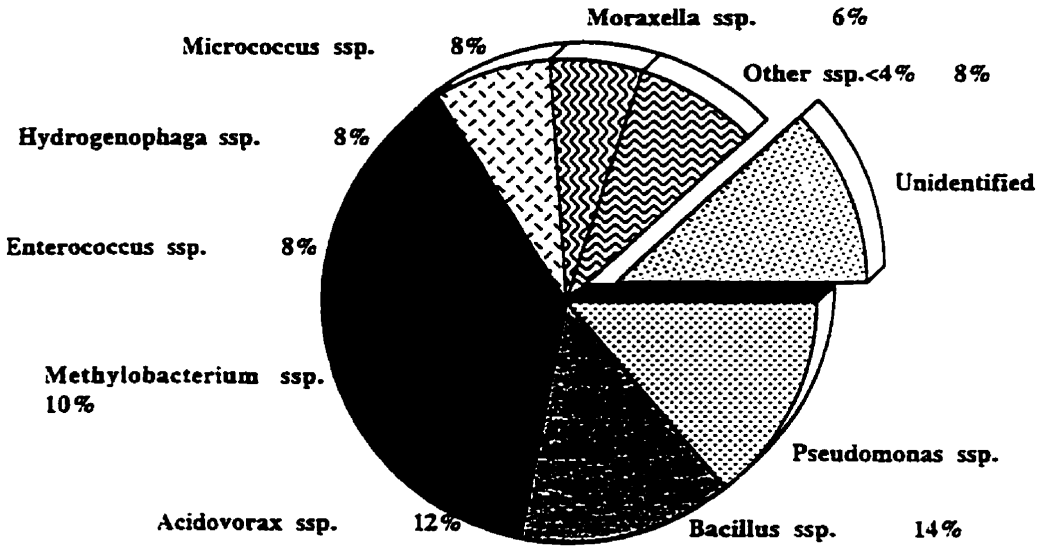


Figure 3.16 Bacterial populations isolated from the Pont Viau distribution system at a short residence time (> 1h) in warm water

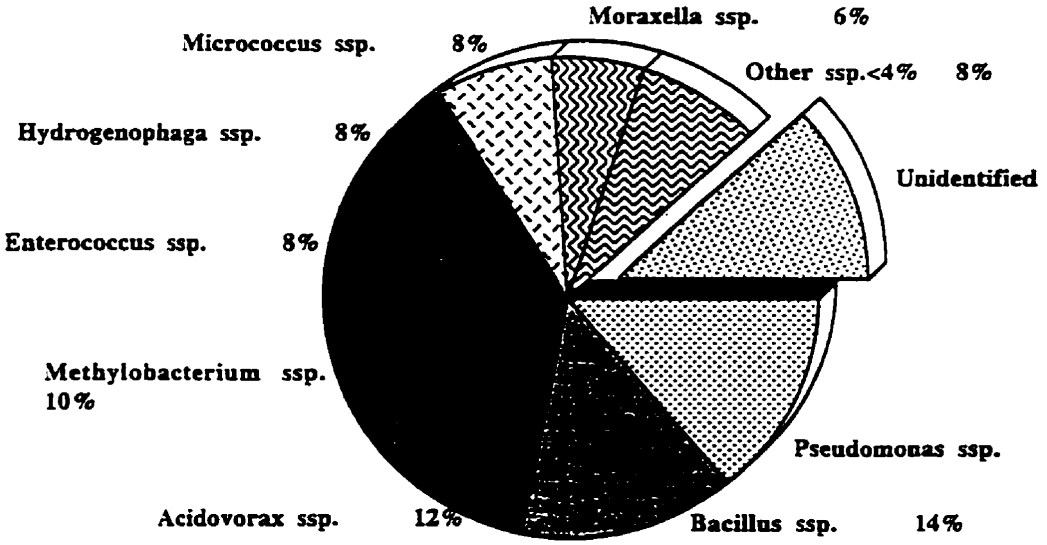


Figure 3.17 Bacterial populations isolated from the Pont Viau distribution system at a high residence time (14h) in warm water

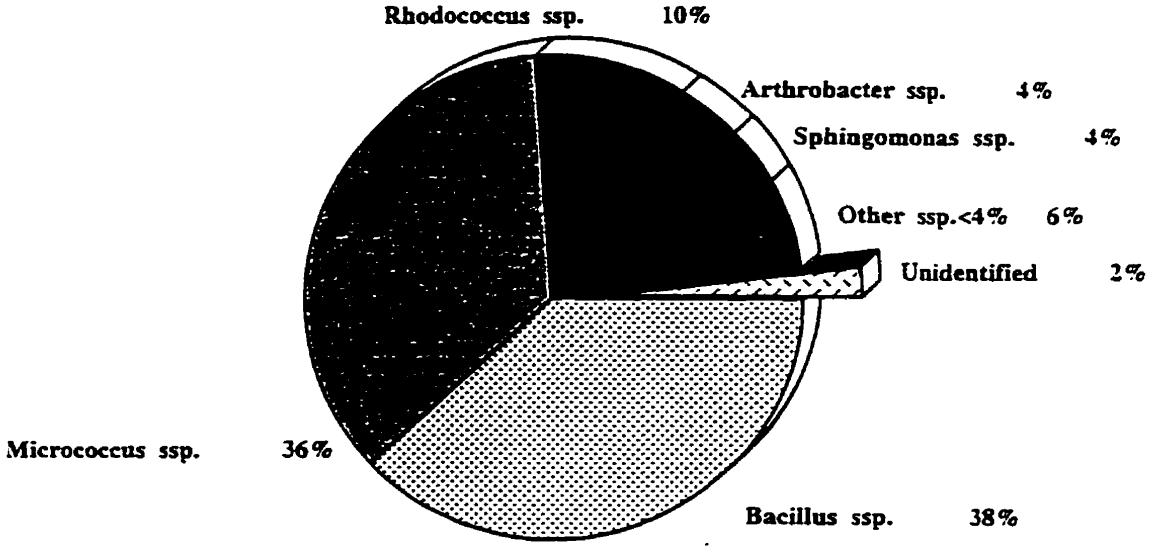


Figure 3.18 Bacterial populations isolated from the Chomedey distribution system at short residence time (> 1h) in cold water

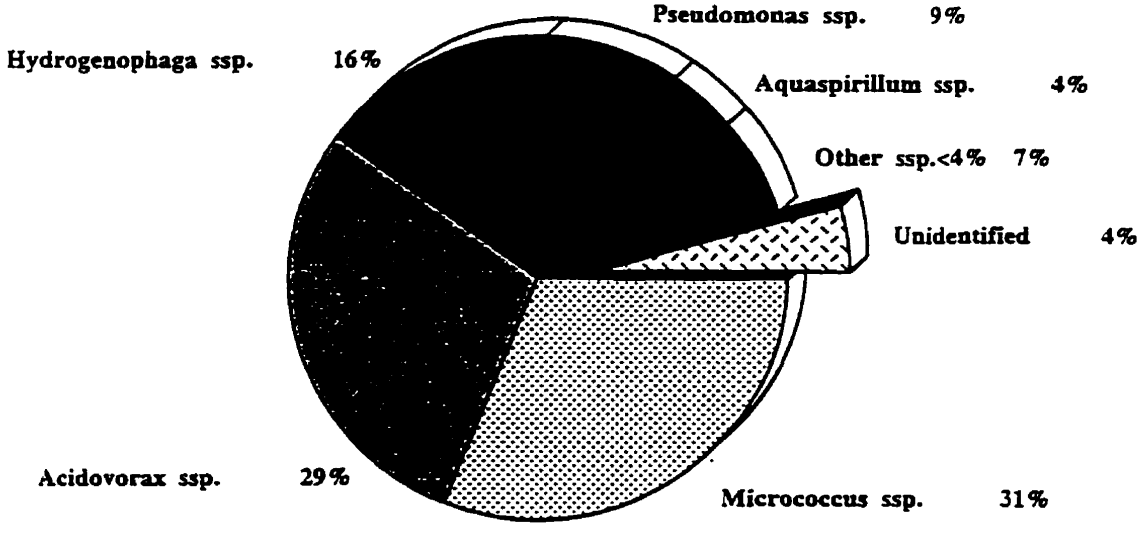


Figure 3.19 Bacterial populations isolated from the Chomedey distribution system at a high residence time (14h) in cold water

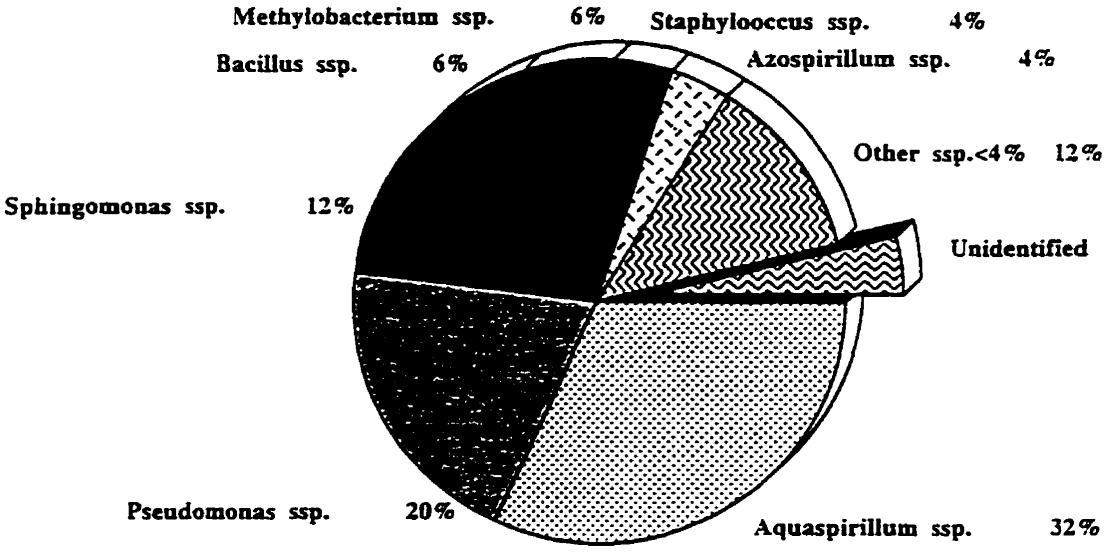


Figure 3.20 Bacterial populations isolated from the Chomedey distribution system at a short residence time (> 1h) in warm water

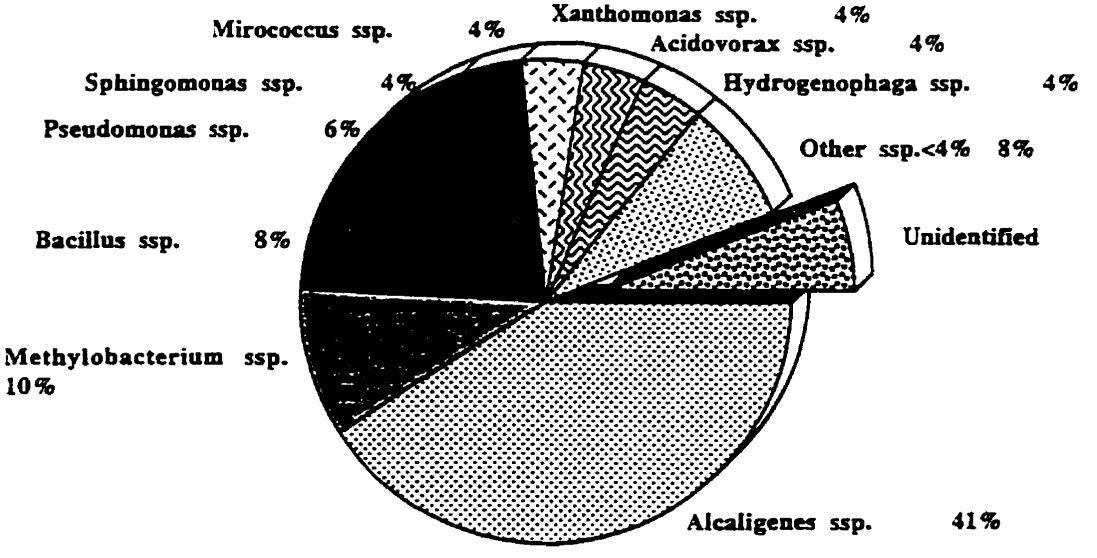


Figure 3.21 Bacterial populations isolated from the Chomedey distribution system a high residence time (14h) in warm water

Annular reactors experiments

Results from the grey iron annular reactors - initial experiment

During the colonization period, biofilm and bulk liquid bacterial densities were monitored weekly to estimate the extent of colonization. The chlorinated and non-chlorinated reactors acted as duplicate trains during that initial period. Table 3.6 presents the characteristics of the feed water to the annular reactors. The pH was very stable during the experimental period. The pH values of the ozonated water were always higher than those of the BAC filter effluent. As noted in Table 3.6, DOC values in the feed waters varied during the experimental period (2.5 - 3.8). BDOC values fluctuated widely with values ranging from less than 0.1 to high values of 1.9 mg C/l.The concentrations of BDOC may appear exceedingly high, but they were obtained without the use of sodium thiosulfate. MacLean *et al.*(1996) have shown that the addition of sodium thiosulfate a quencher of ozone may lead to a substantial underestimation of the BDOC content. Temperatures of the BAC filter effluent and the ozonated waters varied considerably during the experimental period (1 to 23°C) reflecting the temperature fluctuations of the source water. Figure 3.22 shows the changes in water temperature at the plant and the resulting water temperature variations in the annular reactors. Temperatures were relatively stable in the annular reactors during the first 150 days of experimentation. They increase from an average of 11°C during the first 100 days to an average of 15°C during the following 50 days. A small difference between the reactors operated at 1 and 15 hours of residence time was also observed.

Table 3.6 Annular reactors feed water characteristics - initial experiment

	Ozonated Water		BAC Filtered Water	
	Average	*Min - Max*	*Average*	*Min - Max*
Temperature (°C)	9.6	1.5 - 22.5	9.7	1.5 - 22.6
pH	6.64	6.56 - 6.75	6.53	6.47 - 6.60
DOC (mg C/l)	3.36	2.85 - 3.78	2.90	2.48 - 3.41
BDOC (mg C/l)	0.86	0.23 - 1.84	0.49	0.04 - 1.56
AODC ($x10^5$)	6.45	3.80 - 9.22	5.56	2.88 - 8.19

BDOC and DOC concentrations in the BAC filter effluent were significatively lower than in the ozonated water. On the average, bacteria were slightly more abundant in the ozonated water as compared to the BAC filter effluent.

Fixed biomass densities in the reactors were evaluated using the PEPA method and HPC enumeration after scraping of the biofilm. Results of HPC enumeration are presented in Figure 3.23 and results of t-test comparisons of this data before chlorination are presented in Table 3.7. Before chlorination, the fixed bacterial densities were generally lower in the reactors operated at a shorter residence time (1h). Comparing the different reactors operated at 1 hour RT, biofilm densities were found to be slightly lower in the reactors fed by BAC filtered water ($p=0.05$) (mean biofilm density BAC: $4.17 \pm 2.87x10^5$ /cm^2; O_3: $1.22 \pm 0.56x10^6$ /cm^2). The type of feed water did not influence fixed biomass densities in the reactors operated at higher residence times (15h cumulative RT) (mean BAC biofilm density: $4.79 \pm 3.26x10^7$ /cm^2; O_3: $3.44 \pm 2.31x10^7$ /cm^2).

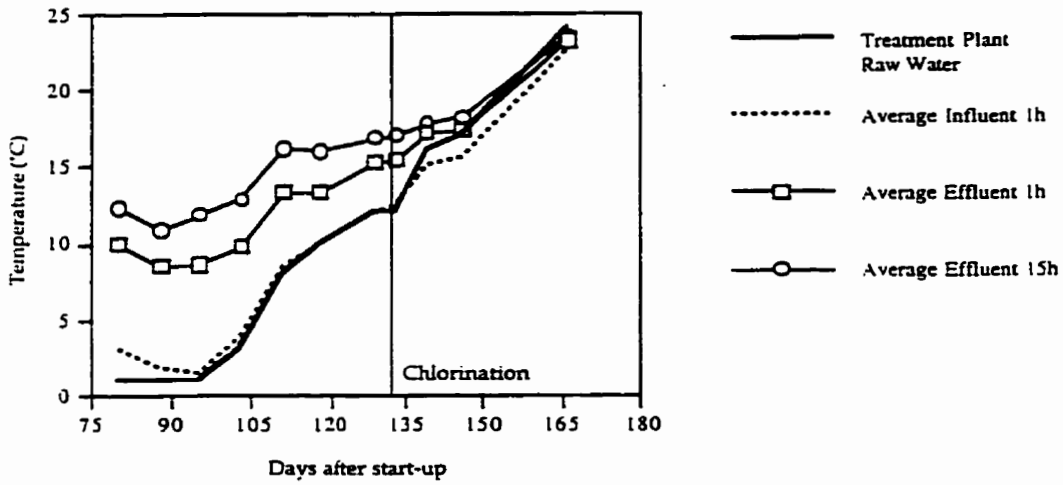


Figure 3.22 Temperature variations in the influent and effluent of the grey iron annular reactors - initial experiment

A pseudo-equilibrium was reached in the reactors after approximately 120 days of operation. Half of the reactors were then fed with chlorinated feedwater and weekly sampling was initiated. The results presented in Figure 3.23 suggest that chlorination at the dosage applied did not affect the fixed bacterial density, even after a month of constant chlorination. No significant differences were detected between the densities in the chlorinated and the non-chlorinated reactors. At no time was a free chlorine residual measured in the effluent of the first reactor (1h RT), even with a chlorine dosage approaching 3 mg/l Cl_2 at the end of the experiment. The accumulation of corrosion by-products in the reactors is believed to be the primary source of this strong and persistent chlorine demand.

Table 3.7 Results of the t-test performed on fixed biomass values before chlorination in annular reactors - HPC enumeration after biofilm extraction

Reactors		*O3 15h*	*BAC 1h*	*BAC 15h*
O3 1h	*t-test*	***-3.49***	***2.52***	***-3.53***
	Prob	***0.018***	***0.054***	***0.017***
O3 15h	*t-test*		***3.62***	-1.67
	Prob		***0.015***	0.156
BAC 1h	*t-test*			***-3.59***
	Prob			***0.016***

n = 5
Bold : 95% significative

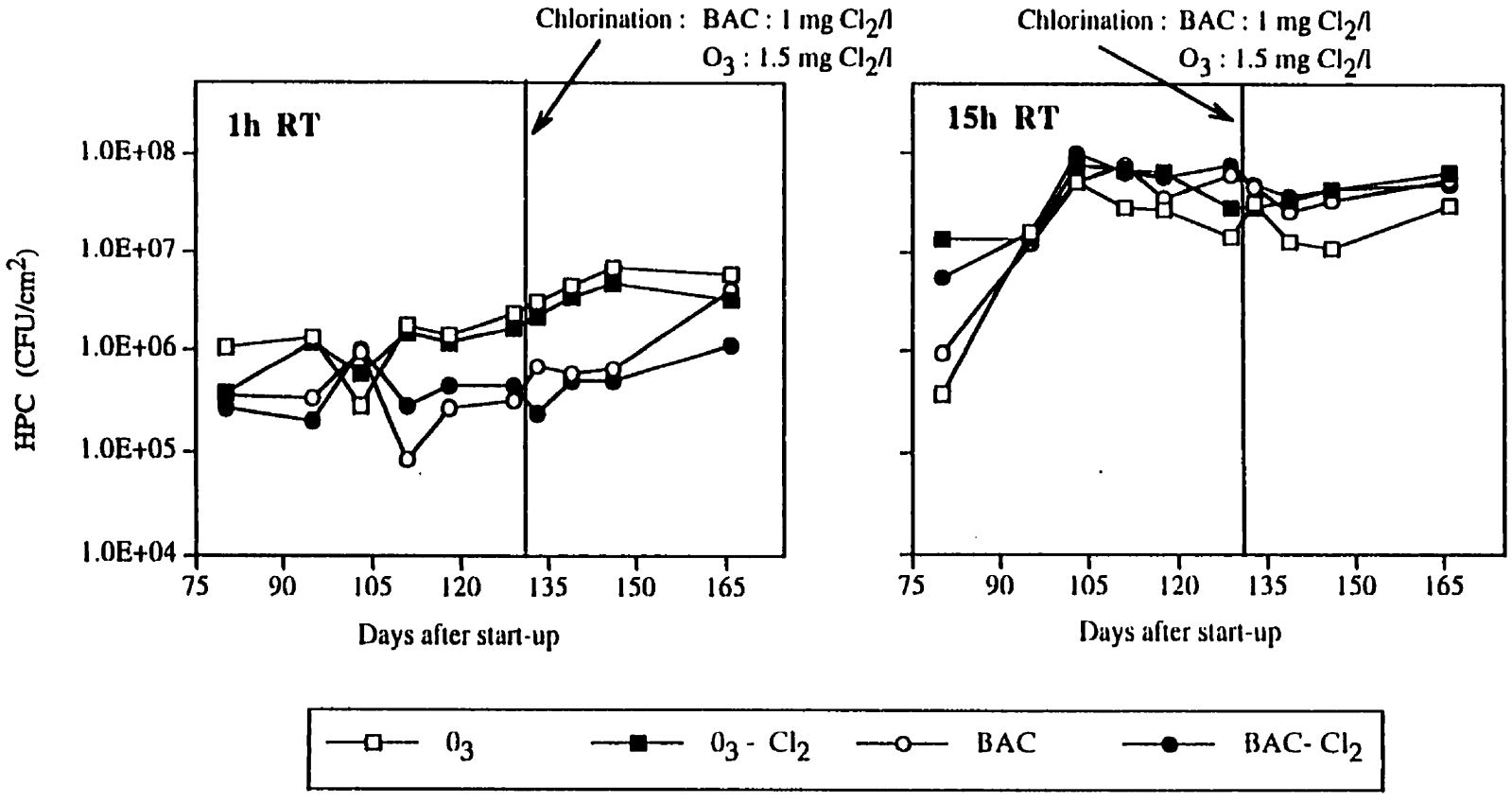


Figure 3.23 Biofilm densities in grey iron annular reactors by HPC enumeration after scraping of the biofilm - initial experiment

At the end of the experimental period, a steady increase of biofilm density was observed in the 1h reactors. This increase may have been caused by the increase in feed water temperature during the last 15 days of the experiment.

Fixed bacterial densities measured by the PEPA before and after the onset of chlorination are shown on Figure 3.24. Results of the t-test comparison between reactors before the onset of chlorination are presented in Table 3.8. Significantly lower biofilm densities were observed in the reactors fed with BAC filter effluent and operated at 1h residence time ($p < 0.001$), no significant difference, with respect to residence time, was measured between the others (mean values before chlorination: BAC 1h: $1.25 \times 10^7 \pm 0.59 \times 10^7$; O_3 1h: $4.44 \pm 0.99 \times 10^7$; BAC 15h: $4.70 \pm 1.13 \times 10^7$; O_3 15h: $4.71 \pm 0.96 \times 10^7$). When considering solely the data after the onset of chlorination, no significant effect of chlorination on biofilm density was detected. These results are consistent with those obtained using the HPC-scraping measurement. In contrast with the HPC-scraping results, the increase in temperature did not bring an increase in measured densities. It is possible that the observed increase with the HPC-scraping method was brought by a higher recovery on R2A medium at 20°C when the water temperature to which the biofilm was adapted increased from 11 to 15°C.

The higher values of fixed biomass in the O_3-1h reactors correspond with a greater consumption of biodegradable organic carbon. DOC levels in the reactors influent and effluent are presented in Figure 3.25. BDOC measurements of the reactors influent and effluent were performed weekly during the initial experiment. The average BDOC removal values are presented in Table 3.9. Higher standard errors reflect the variability of the BDOC concentrations during the experimental period. Very small BDOC removals were observed in the reactors fed by BAC filtered water, especially in those operated at a 1h residence time. This was to be expected given the lower concentrations of rapidly assimilable carbon remaining after BAC filtration. Easily biodegradable carbon produced by ozonation is removed during the BAC filtration. Table 3.9 also demonstrates that the total amount of BDOC removed during BAC filtration is equivalent to the amount removed in the first reactor fed by ozonated water (O_3 1h). Interestingly, the total removal of BDOC (plant + reactors) coincides for the two systems studied (O_3 and BAC) with a total removal of 0.6 mg/l. This shows that in full-scale DS, if the easily assimilable BDOC is not removed in the plant, it will be available to support growth in the front end of the distribution system.

Table 3.8 Results of the t-test performed on fixed biomass values before chlorination in annular reactors - PEPA method, initial experiment

Reactors		*O3 15h*	*BAC 1h*	*BAC 15h*
O3 1h	*t-test*	-0.42	***6.26***	-0.40
	Prob	0.687	***0.0008***	0.700
O3 15h	*t-test*		***13.90***	0.04
	Prob		***0.001***	0.972
BAC 1h	*t-test*			***-13.87***
	Prob			***0.0001***

n = 6
Bold : 95% significative

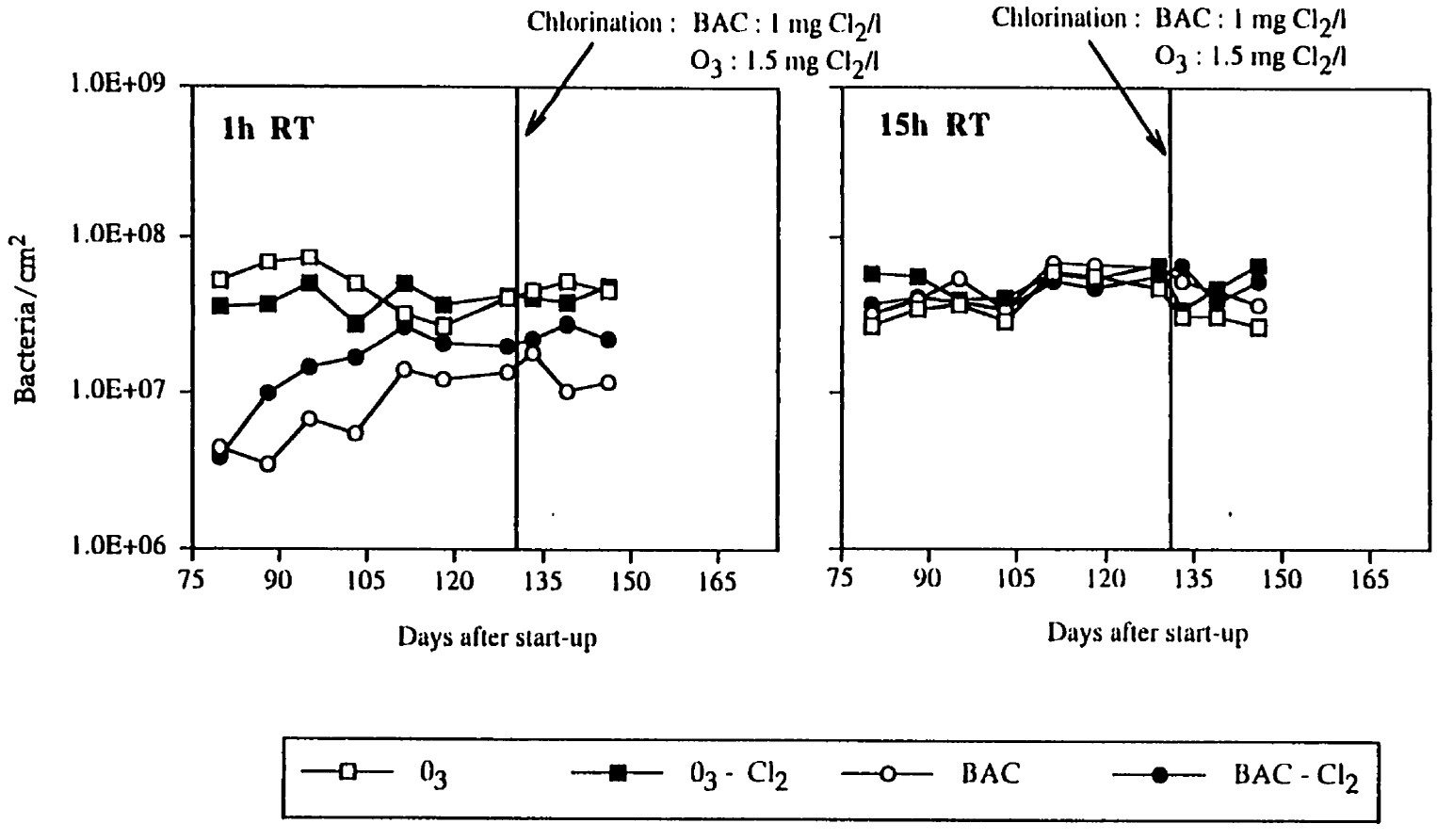


Figure 3.24 **Biofilm densities in grey iron annular reactors using the PEPA method - initial experiment**

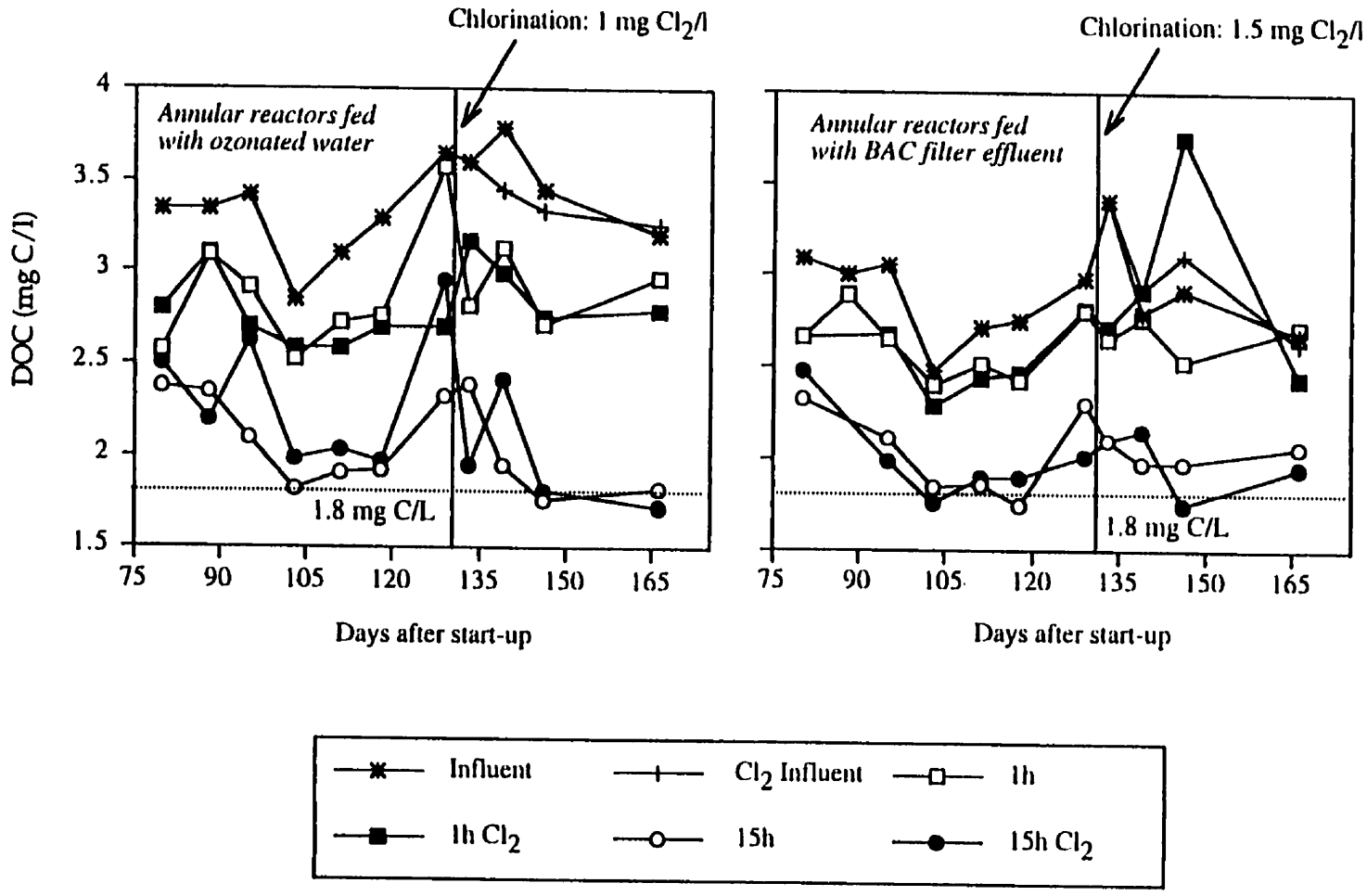


Figure 3.25 DOC variations in the influent and effluent of the grey iron annular reactors

Table 3.9 Average BDOC removal values by reactors and full-scale BAC filters in the St.Rose water treatment plant

BDOC removed in	1h reactors	15h reactors	Total
Reactors fed with BAC filter effluent	0.07± 0.31	0.18± 0.17	0.25
Reactors fed with ozonated water	0.33± 0.40	0.27± 0.17	**0.60**
Full-scale BAC filters			0.35± 0.27
Reactors fed with BAC filter effluent + Full-scale BAC filters			**0.60**

Planktonic cells were also enumerated during the initial experiment and results are presented on Figure 3.26 and Table 3.10 (statistical comparison before chlorination). The number of bacteria in the BAC filter effluent were slightly but significantly lower than in the ozonated water (p=0.003). From Figure 3.26, it can be seen that counts usually decreased slightly but not significantly in the first reactors operated at 1 hour of RT. The decrease of total counts, which is a net consumption of bacteria, was striking in the 15 hours RT reactors. These results were surprising since a net export of bacteria from the reactors was expected. The fact that the differences were not significant stems from the high variability of the data during the first 25 days of monitoring (day 78 to day 100). A possible explanation of this phenomena is grazing. Protozoa are more likely to multiply in the 15 hours residence time reactors because of the lower dilution rates.

Table 3.10 Results of the t-test performed on planktonic biomass values before the onset of chlorination in annular reactors - acridine orange direct count method, initial experiment

Reactors		*O3 1h*	*O3 15h*	*BAC Influent*	*BAC 1h*	*BAC 15h*
O3 Influent	*t-test*	-0.91	1.59	***4.75***	2.22	***2.48***
	Prob	0.399	0.162	***0.003***	0.068	***0.048***
O3 1h	*t-test*		1.90	***3.12***	3.23	***2.82***
	Prob		0.11	***0.021***	0.180	***0.031***
O3 15h	*t-test*			-0.91	-1.09	***2.78***
	Prob			0.399	0.316	***0.032***
BAC Influent	*t-test*				-1.10	1.81
	Prob				0.313	0.120
BAC 1h	*t-test*					1.96
	Prob					0.097

n = 6
Bold : 95% significative

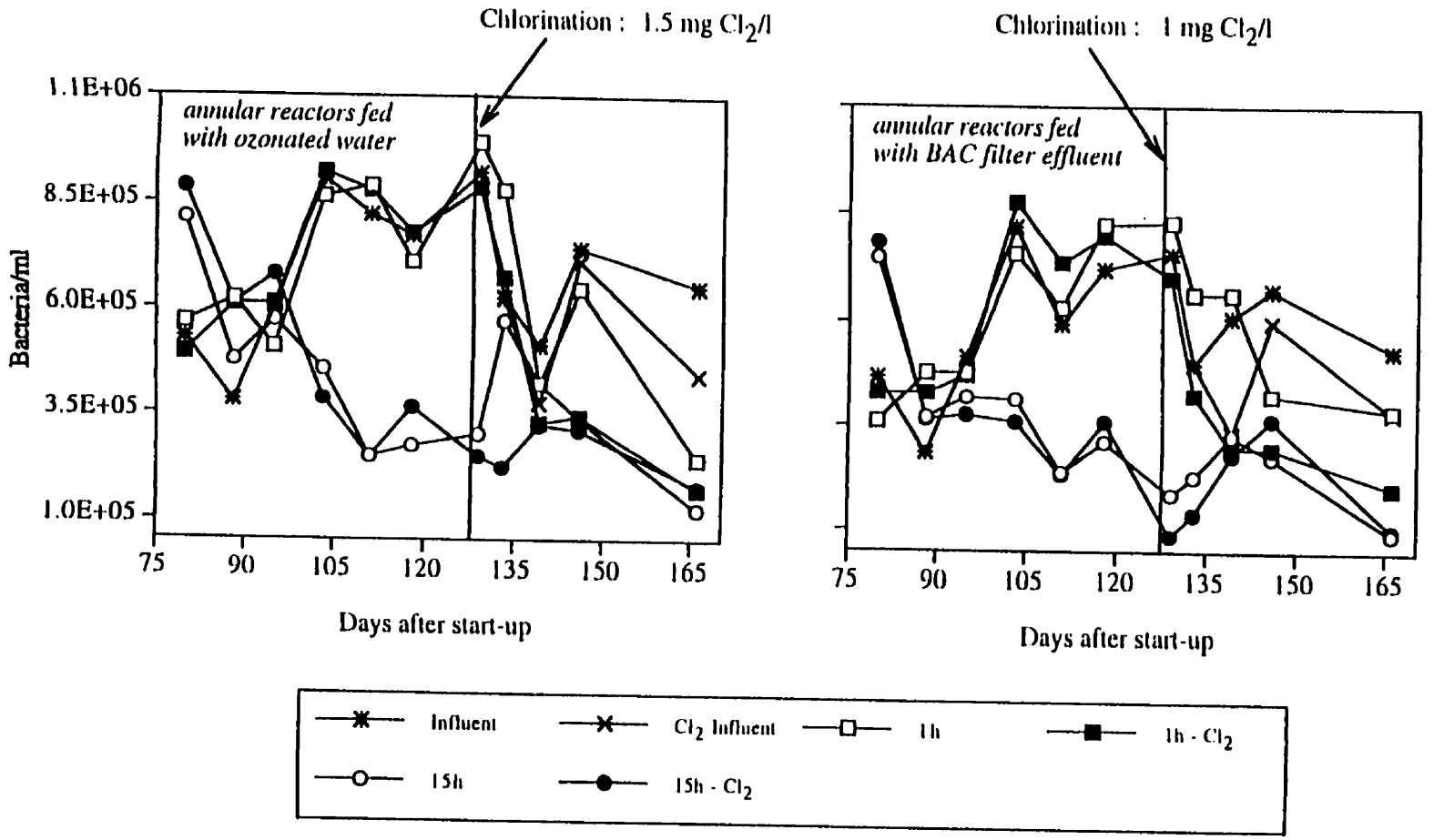


Figure 3.26 Variations of planktonic cells (AODC) in the influent and effluent of the grey iron annular reactors - initial experiment

A small impact of chlorination was observed on the bacteria counts in the influent and effluent of the chlorinated reactors.

Under the conditions of operation of the first experiment, rapid and severe corrosion of the outer ring and coupons occurred and resulted in the accumulation of corrosion by-products. The large amounts of corrosion by-products rendered the sampling of coupons difficult. A crust slowly formed over the coupon and it became tedious to retrieve all of that crust when sampling the coupon. Loosing some of this crust may have resulted in loosing some of the overlying biofilm leading to an underestimation of the fixed biomass. Moreover, the enumeration of bacteria in the liquid phase by direct epifluorescence became more difficult in the presence of corrosion by-products (messy slides).

At the end of the experiment, the internal surface of the annular reactors and the external surface of the rotors were scraped. Two measurements were completed: dry weights of the material and HPC enumeration. Measurements of dry weight were obtained after 3 hours of drying at 110°C. It is believed that corrosion by-products constituted most of the material sampled, although organic matter from the biofilm was included in the weight after low temperature drying. Figure 3.27 shows the results of these dry weight measurements and Figure 3.28 the results of the HPC enumeration on the outer metal ring and the inner polycarbonate rotor. These numbers are shown beside average biomass values for coupons in each reactor.

The results of dry weights measured on the internal surface of the annular reactors support the following observations :

1) the effect of residence time on corrosion by-products accumulation : more deposits of corrosion by-products were found in the reactors operated at a 1 hour RT and fed with BAC filtered water. This was not observed in the reactors fed with ozonated water;
2) the effect of chlorination on corrosion by-products accumulation : sustained chlorination for one month considerably reduced the amount of corrosion deposits on the metal surfaces, especially in the 1h residence time reactor fed with BAC filtered water;
3) the effect of material on corrosion by-product accumulation : the accumulation of deposits on the polycarbonate rotor was lower per unit of surface and did not follow the same trends with metal surfaces.

Figure 3.29 (a, b, c, d) presents photographs of the inner surfaces of the outer ring at the end of the experimental period. The ranking of reactors in terms of importance of deposits is visually obvious: BAC 1 hour reactor being heavily coated with deposits. Coupons appear to have become corroded more rapidly than the rest of the metal surface. Apart from the initial differences in surface rugosity which may have occurred, sampling the coupons requires scraping which significantly changes the surface of the metal, increasing the available surface for corrosion. The effect of chlorination in reducing the amount of deposits is also clearly observed. Chlorination actually reversed the order in which the reactor were in terms of accumulation of deposits.

Results of HPC after extraction of the biofilm from the rotors of the reactors also suggest that the support material is the most important factor in determining the density of fixed biomass. Densities recovered from the polycarbonate rotor surfaces were substantially much lower than those recovered on the metal surfaces (1 to 3 log). The differences appear to be greater in nutrient poor water (BAC) at short residence time (1h). Chlorination did not impact on the density of biofilm on the polycarbonate surface. As mentioned earlier, chlorination had no effect on the densities of fixed biomass on metal coupons. This absence of impact is surprising given the large impact of chlorination on deposit accumulation. Data of the densities on the inner polycarbonate drums suggest that chlorination actually stimulated biofilm growth in the nutrient poor water (BAC filtered).

The amount of deposits accumulating on the surfaces is determined by a number of factors: corrosion rates, nature of the deposits, resistance to sheer stress, and impact of chlorination on that resistance. Various factors, such as pH, alkalinity, chlorine residual, chlorine, sulfate, dissolved oxygen, and temperature may influence corrosion rates (LeChevallier *et al.*, 1993). The St.Rose water has a very low alkalinity and a low pH. Values of pH measured in the reactors varied

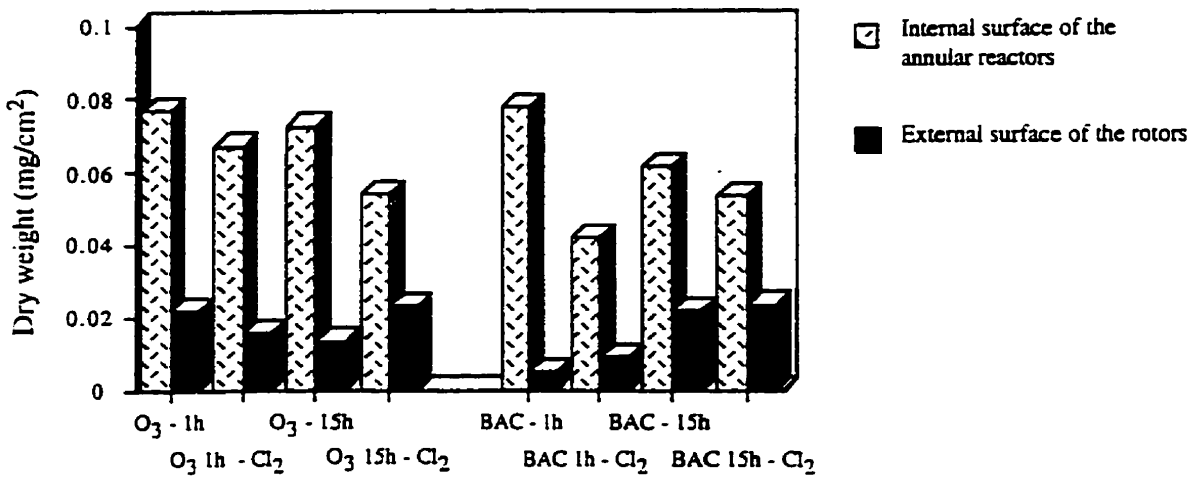


Figure 3.27 Comparison of dry weights values after scraping the internal surface of the grey iron annular reactors and the external surface of the rotors

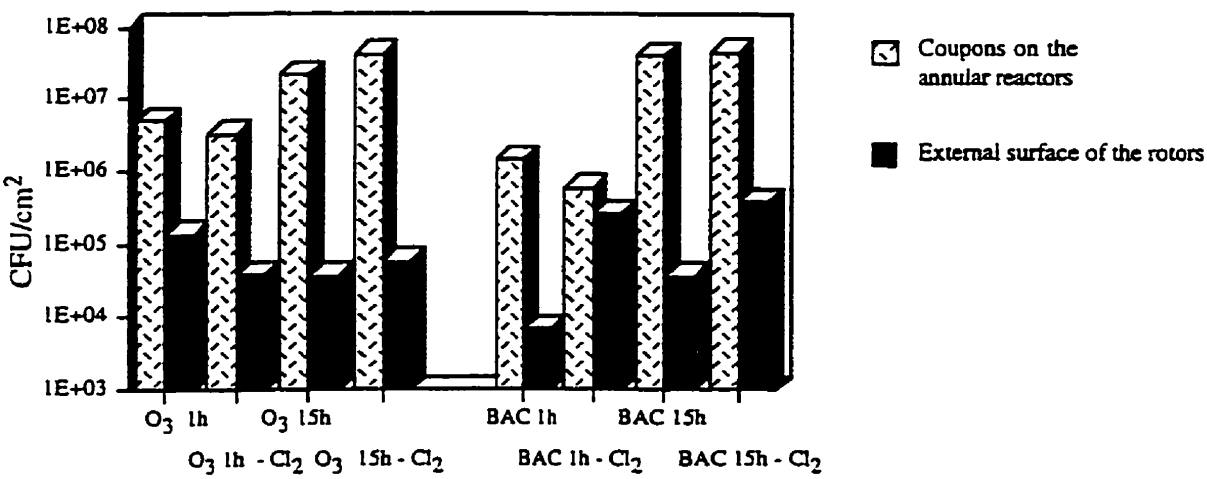
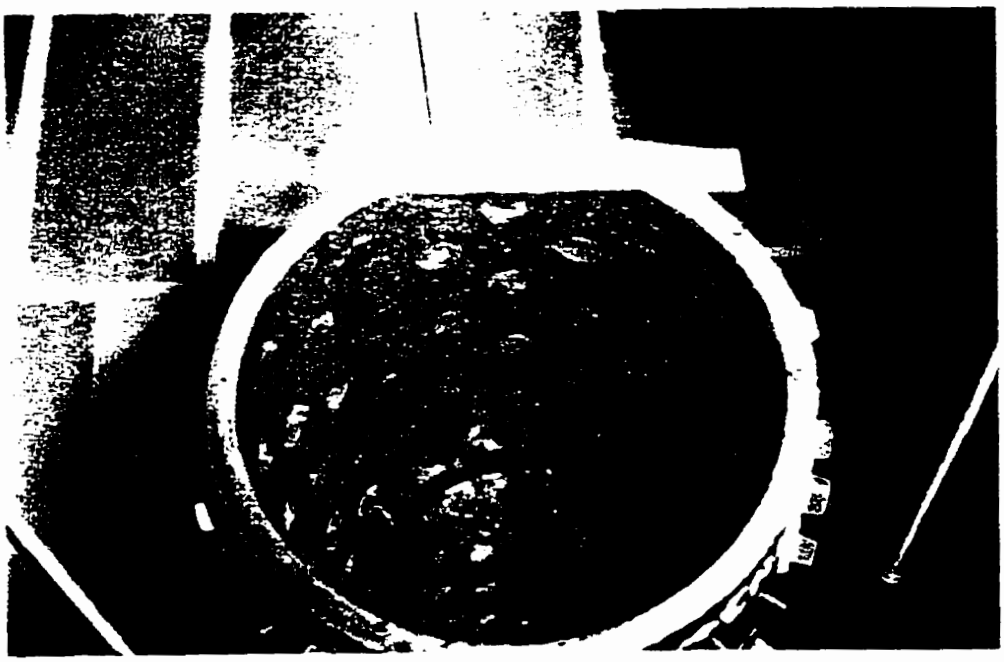


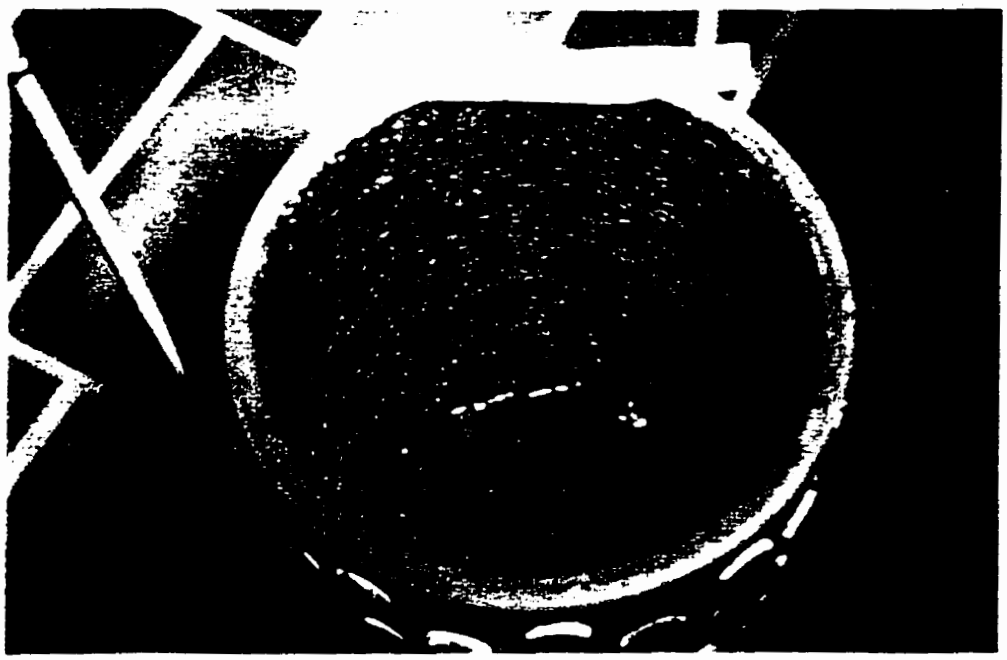
Figure 3.28 Comparison of biofilm densities (HPC) after scraping the coupons and the external surface of the annular reactors rotors (values for HPC on the coupons are an average of the last 4 sampling campaigns)

CAB 1h

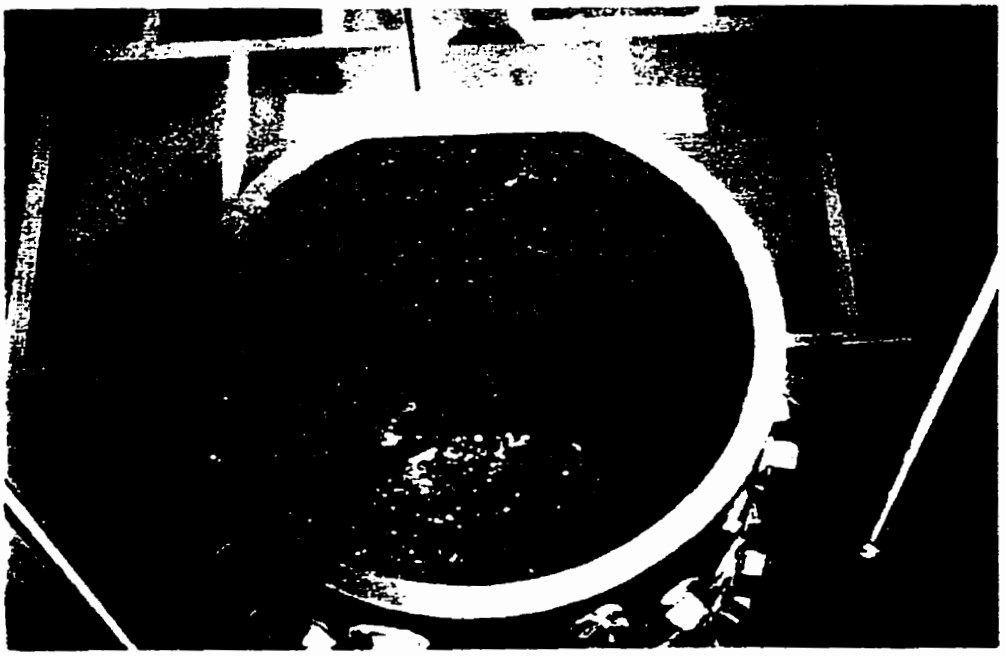


CAB 15h

Figure 3.29a Internal surfaces of the non-chlorinated reactors fed with BAC filter effluent

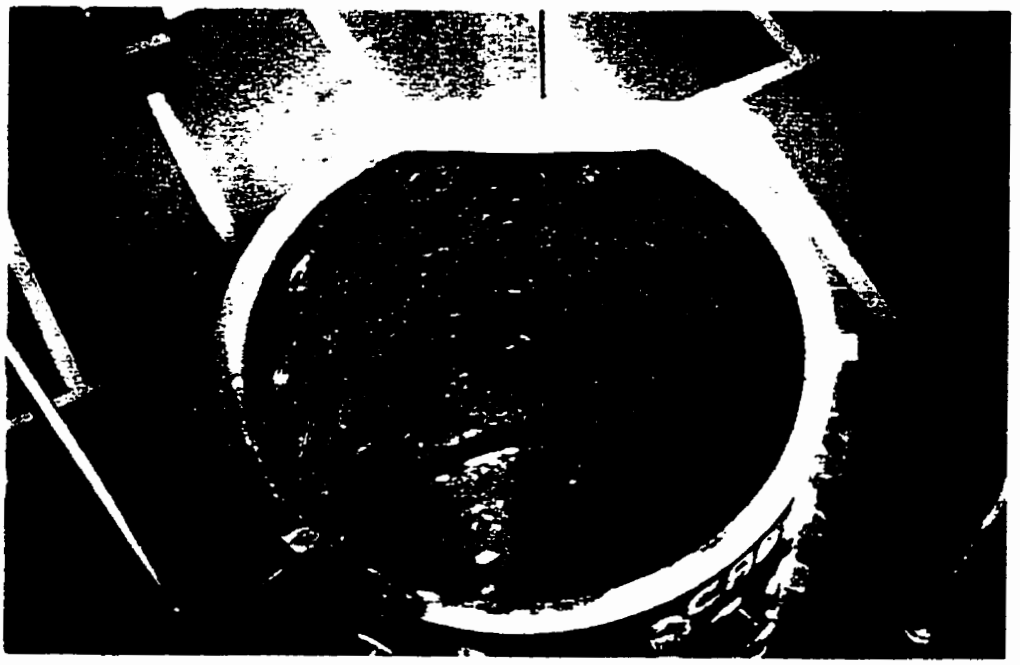


O_3 1h

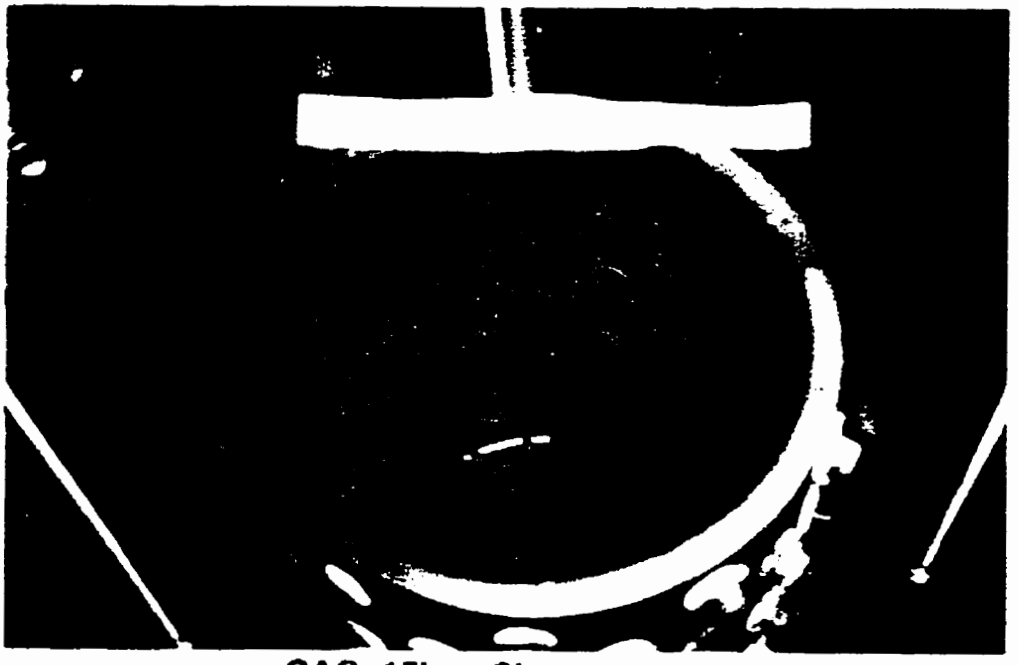


O_3 15h

Figure 3.29b **Internal surfaces of the non-chlorinated reactors fed with ozonated water**

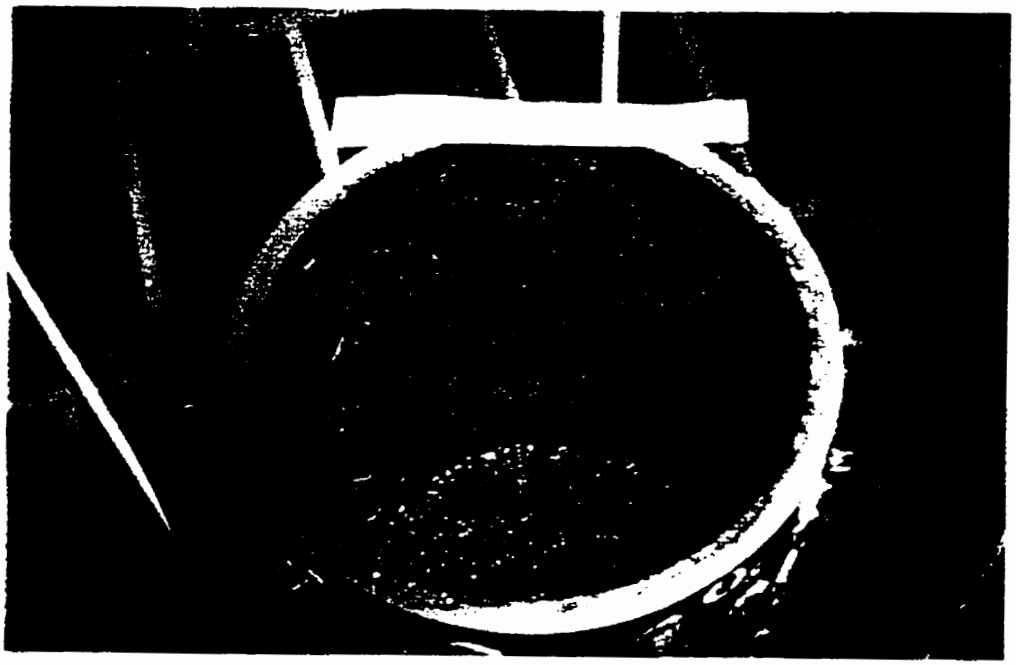


CAB 1h - Cl_2



CAB 15h - Cl_2

Figure 3.29c Internal surfaces of the chlorinated reactors fed with BAC filter effluent



O_3 1h - Cl_2

O_3 15h - Cl_2

Figure 3.29d Internal surfaces of the chlorinated reactors fed with ozonated water

between 6.5 and 7.2 (Figure 3.30) and pH increased from the 1h RT reactors to the 15h RT reactors. The average value of pH at the plant's effluent is higher since the pH is adjusted by the addition of lime to control corrosion. Figure 3.27 also shows that the addition of chlorine did not change the pH of the reactor's feed waters.

The Larson and Langelier indexes can be used to compare the corrosivity of the reactor and plant waters. The calculated Larson indexes for the plant effluent and the water feeding the reactors are shown in Table 3.11.

Table 3.11 Calculation of the Larson Indexes

	SO_4^{2-} (Mol/l)	Cl^- (Mol/l)	HCO_3^- (Mol/l)	LI1	LI2
Ozonated Water	0.00026	0.00015	0.0002	3.35	0.75
BAC Filtered Water	0.00026	0.00015	0.0002	3.35	0.75
Ste-Rose Treated Water	0.00033	0.00017	0.00032	2.59	0.53

Larson Index 1: $LI1 = 2[SO_4^{2-}] + [Cl.] / [HCO_3^-]$

Larson Index 2: $LI2 = [Cl^-] / [HCO_3^-]$

All corrosion indexes (1 & 2) were significantly higher in the annular reactors feed water when compared, with those of the water leaving the treatment plant. Values are much higher than the recommended level of LI2 of 0.1 (LeChevallier *et al.*,1993). All operating pH were much lower than the pH calculated by the Langelier index. For the effluent of the St.Rose treatment plant, the equilibrium pH is estimated at 9.1 (Langelier indexes of -1.23 at 18°C and -1.63 at 2°C). In the case of the reactors feed waters, the equilibrium pH were even higher at 9.6 (Langelier indexes of -3.18 at 18°C and -3.,58 at 2°C).

The Larson index, based on the ratio of chlorites, sulfates on bicarbonate concentrations, allows us to measure the tendency of the material to pitting corrosion. The Langelier index is an indicator of the tendency to deposit iron on the pipe surface. For both indexes, calculated values indicate that the BAC effluent and the ozonated water were very corrosive for overall corrosion as well as for pitting corrosion.

Although these indexes are frequently used by the water utilities to evaluate the pH adjustment necessary to provide a calcium carbonate precipitate in the distribution system, such indexes are of poor utility for the type of water used in this study. Not only would the pH need to be adjusted to a very high value, but the low Ca^{2+} content of the water would not permit substantial deposits to be formed.

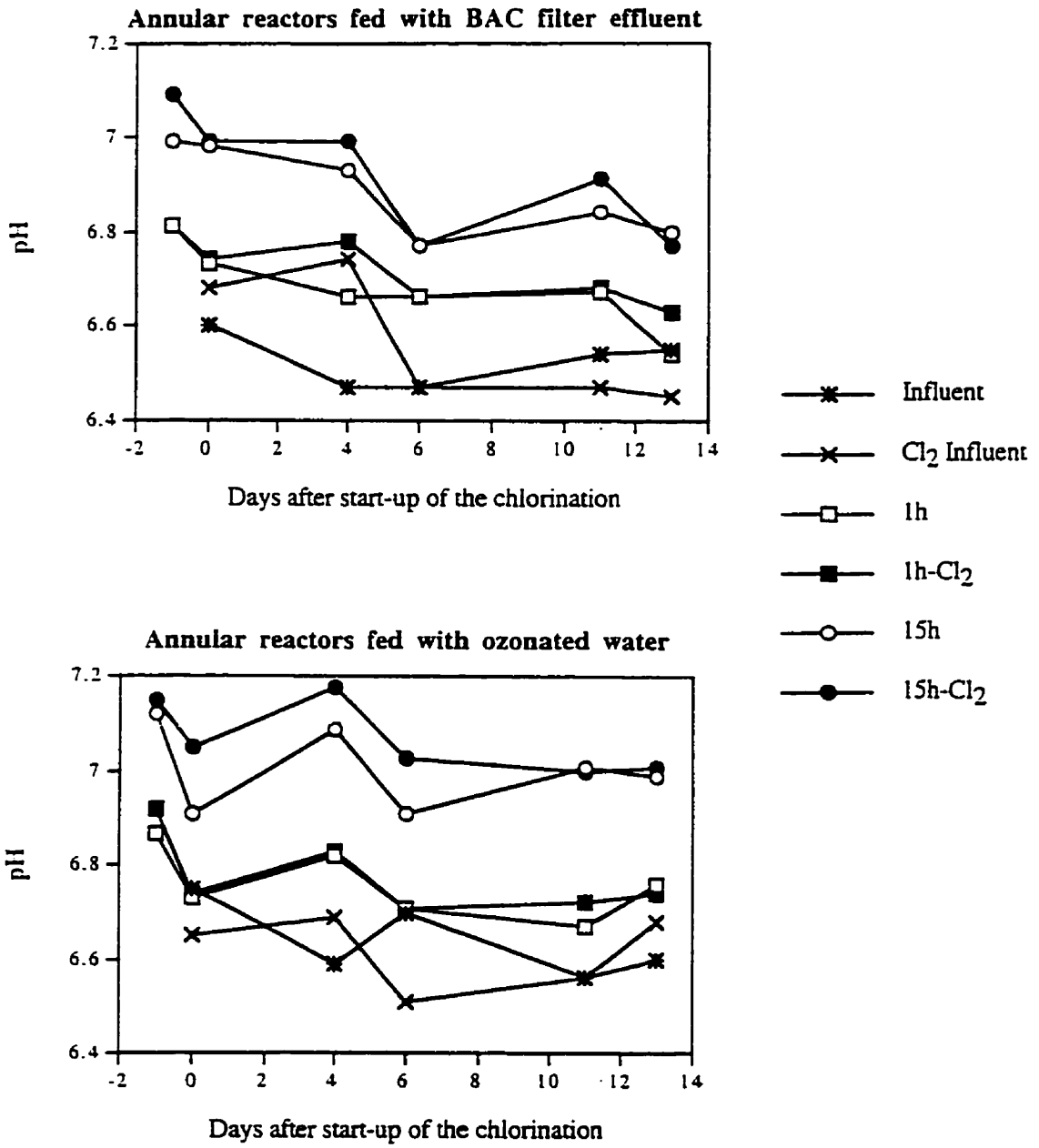


Figure 3.30 Variations of pH in the influent and effluent water of the grey iron annular reactors

Results from the grey iron annular reactors - repeat experiment

The repeat experiment using the grey iron annular reactors was completed to validate experimental results. Table 3.12 summarizes the characteristics of the water feeding the annular reactors during this second experiment. The sampling campaigns began after 4 months of colonization. Since this repeat experiment was completed earlier in the year, the temperature of water entering the reactors varied less than during the first experiment. The DOC concentrations of the influent to the reactors were slightly higher than those measured during the first experiment. Again, the average densities of suspended bacteria were lower in the BAC filter effluent than in the ozonated water. The number of suspended bacteria in both types of water was much lower than for the initial experiment.

Table 3.12 Characteristics of the water feeding the annular reactors - repeat experiment

	Ozonated Water		BAC Filtered Water	
	Average	*Min - Max*	*Average*	*Min - Max*
Temperature (°C)	3.3	0.4 - 13	3.3	0.4 - 13
pH	6.54	6.34 - 6.66	6.60	6.40 - 6.68
DOC (mg C/l)	3.41	2.90 - 3.83	2.94	2.75 - 3.35
AODC ($x10^5$)	2.12	0.96 - 3.97	2.14	0.70 - 3.52

Fixed biomass densities were only monitored using the PEPA method (Figure 3.31). Results of fixed bacterial densities before the onset of chlorination are similar to those from the initial experiment obtained using the PEPA method. Trends regarding the effects of residence time and nutrient levels were consistent with those observed during the first experiment. Again, fixed biomass densities were significantly lower in the BAC filtered reactor operated at 1 hour of RT. The results of the statistical analysis of these data are shown in Table 3.13. Bacterial densities were however significantly higher (1 log) than measured during the initial experiment. This difference could result from the cleaning and treatment of the metal surface before and between the two experiments. After cleaning, the reactors were sand blasted. Sand blasting may have increased the roughness of the coupon surface and provided additional sites for corrosion to occur providing additional sites for bacterial attachment. A second sand blasting may have removed the more corrosion resistant surface layers of the metal coupons.

As shown on Figure 3.31, chlorination did affect on the densities of fixed bacteria during this repeat experiment. Densities of fixed bacteria in the reactors operated at a 1h residence time decreased after the onset of chlorination (O_3 1h: $19.2\pm2.73x10^7/cm^2$, O_3 1h-Cl_2:$7.19\pm1.13x10^7/cm^2$ and $p<0.001$) (BAC 1h: $4.88\pm1.38x10^7/cm^2$, BAC 1h-Cl_2: $2.41\pm0.52\ x10^7/cm^2$ and $p=0.03$). The decrease occurred progressively and biofilm densities appeared to reach a pseudo-state of equilibrium after 10 days of chlorination. Overall, the decrease in density although statistically significant, was not very large. Some differences in operating conditions may have contributed to the different trends observed during the first and repeat experiments : the fixed bacterial densities were higher and temperatures in the annular reactors during the chlorination period were slightly lower (3-4°C) than during the first experiments (Figure 3.32). The effect of chlorine was not carried over to the reactors operated at 15 h of residence time. As during the first experiment, no free residual chlorine was measured in the effluent of the 1h RT reactors even after more than 30 days of chlorination. During the second experiment, planktonic cells were also enumerated weekly. The results of direct microscopic counts are presented on Figure 3.33 and the statistical analyses of these data included in Table 3.14.

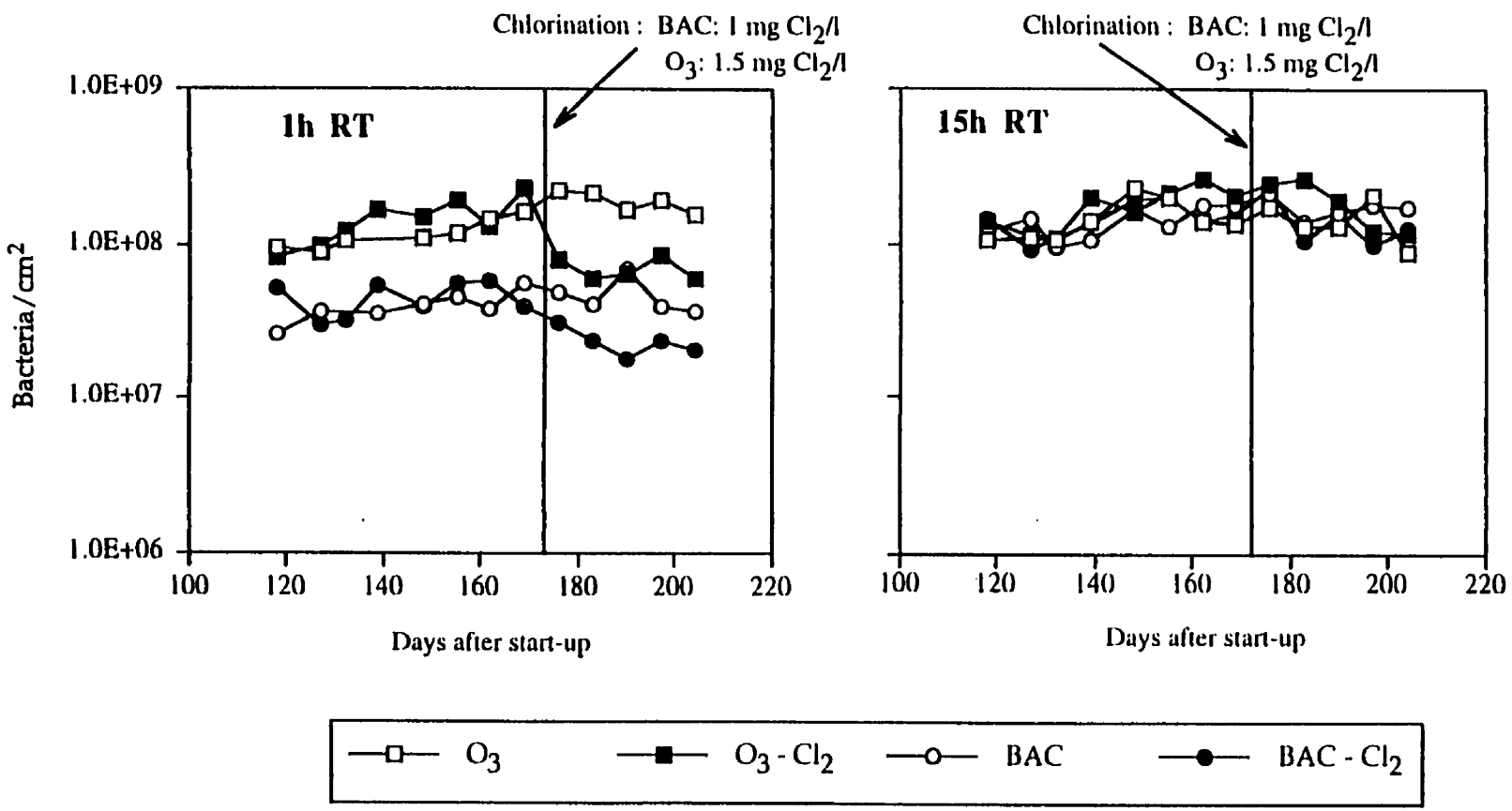


Figure 3.31 **Densities of fixed bacteria in grey iron annular reactors using the PEPA method - repeat experiment**

Table 3.13 Results of the t-test performed on fixed biomass (PEPA) values before chlorination in annular reactors, repeat experiment

Reactors		*O3 15h*	*BAC 1h*	*BAC 15h*
O3 1h	*t-test*	-2.29	***8.38***	-0.74
	Prob	0.056	***0.0001***	0.485
O3 15h	*t-test*		***9.80***	2.12
	Prob		***0.0001***	0.072
BAC 1h	*t-test*			***-12.15***
	Prob			***0.0001***

n = 7
Bold : 95% significative

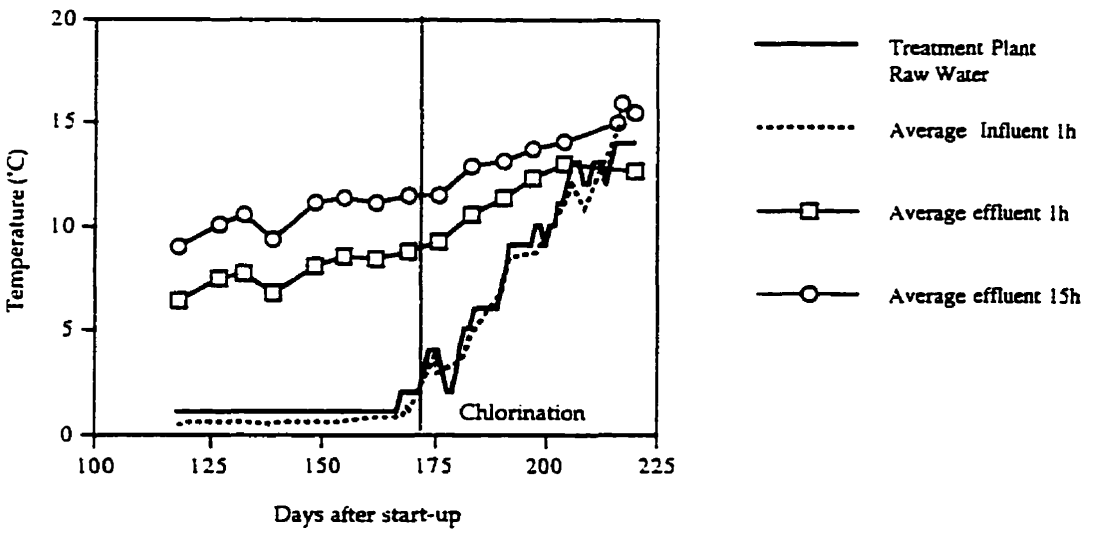


Figure 3.32 Temperature of the influent and effluent of grey iron annular reactors - repeat experiment

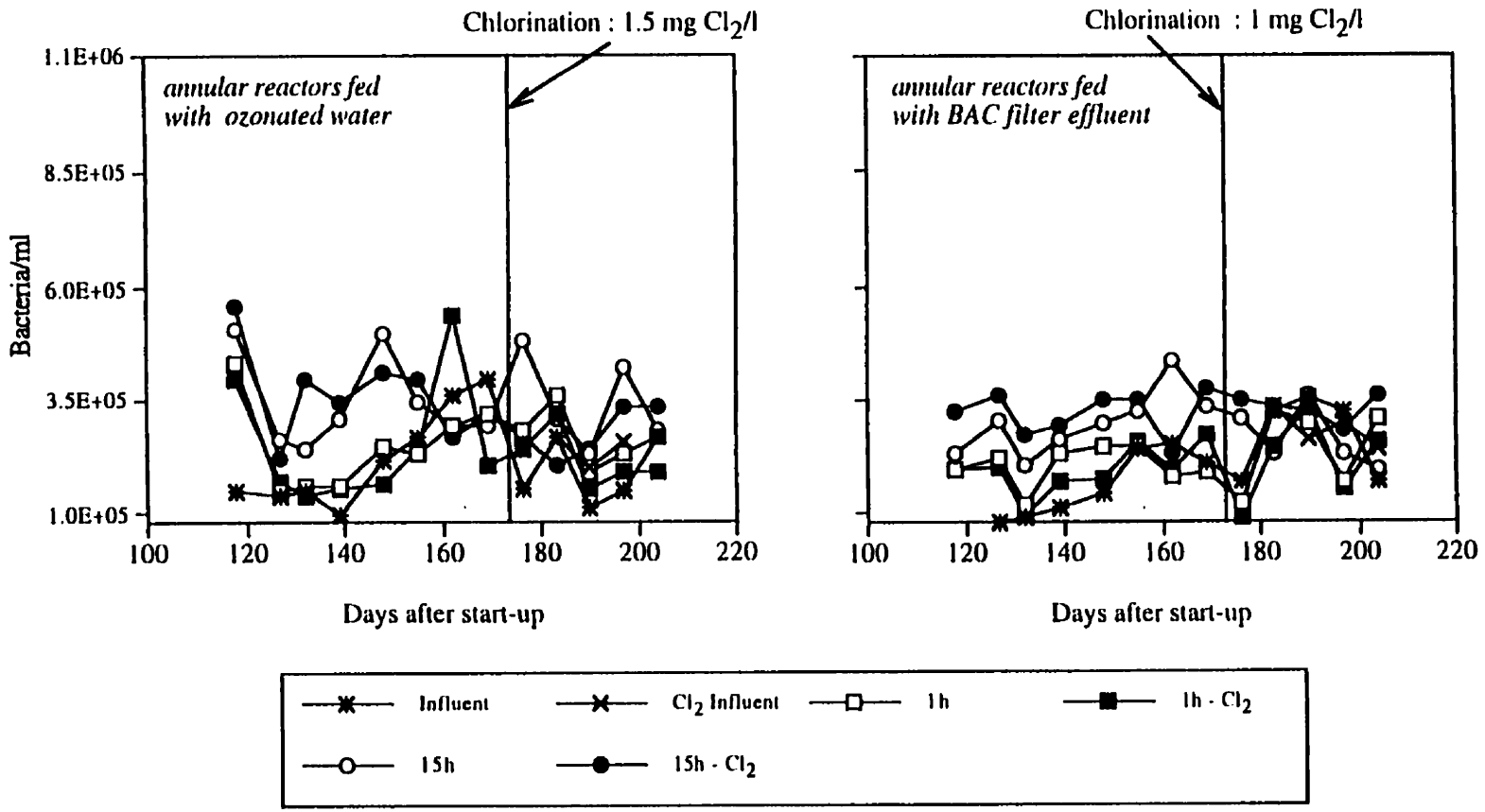


Figure 3.33 Variations of the numbers of planktonic cells (AODC) in the influent and effluent water of grey iron annular reactors - repeat experiment

Table 3.14 Results of the t-test performed on suspended bacteria values before chlorination in annular reactors - acridine orange direct count (AODC) method, repeat experiment

Reactors		*O3 1h*	*O3 15h*	*BAC Influent*	*BAC 1h*	*BAC 15h*
O3 Influent	*t-test*	0.72	***-2.33***	***3.52***	0.67	***-2.80***
	Prob	0.497	***0.053***	***0.010***	0.523	***0.026***
O3 1h	*t-test*		***-2.58***	***2.65***	1.34	-1.48
	Prob		***0.034***	***0.033***	0.222	0.182
O3 15h	*t-test*			***4.27***	***4.30***	1.18
	Prob			***0.004***	***0.004***	0.277
BAC Influent	*t-test*				-2.11	***8.07***
	Prob				0.073	***0.0001***
BAC 1h	*t-test*					***-11.87***
	Prob					**0.0001**

n = 7
Bold : 95% significative

Overall, the densities of suspended bacteria were lower during the repeat experiment, even though the fixed biomass was almost ten times denser. These differences are surprising since no changes were implemented in the water treatment plant and plant was not modified and the reactors were operated under the same conditions (rotational speed and temperature) for the two experiments. The only major difference appears to be the preparation of the surface of the metal coupons.

Although chlorination decreased the density of fixed biomass in the reactors operated at 1 hour of RT, during the repeat experiment, chlorination did not reduce significantly the number of suspended cells. Many studies have demonstrated that suspended biomass is more likely to be affected by chlorine than fixed bacteria (Ridgway and Olson, 1982; Herson *et al.*, 1987; Van der Wende *et al.*, 1989; LeChevallier *et al.*, 1990). But all of these studies based their findings on the effect of chlorine on culturable bacteria which are very sensitive to chlorination (McFeters *et al.*, 1986). Our estimates of suspended bacteria are based on direct counts (AODC), for which it is not possible to differentiate viable from dead cells. During the first experiment, chlorination probably resulted in some limited cell lyses which did not occur during the repeat experiment.

The net consumption of suspended bacteria in the reactors operated at a 15 hours of residence time observed during the initial experiment (Figure 3.26) was not seen during the repeat experiment. For the reactors operated at 1h of residence time, a small non significant export of bacteria was measured. Some efforts were deployed to isolate and enumerate protozoans but all analyses were negative.

Results from the polycarbonate annular reactors

A third experiment was conducted using polycarbonate reactors to assess the impact of nutrient and chlorination on fixed bacterial densities in the absence of corrosion.

Since polycarbonate does react with chlorine, several experiments were initiated 1) to estimate the chlorine demand of new polycarbonate and 2) to assess the efficacy of several chemical pre-treatment to eliminate this chlorine demand. Figure 3.34 shows the magnitude of the short and long term chlorine demand of the new polycarbonate surfaces of an annular reactor. Chlorine demand of the polycarbonate surfaces is derived from the total chlorine demand from

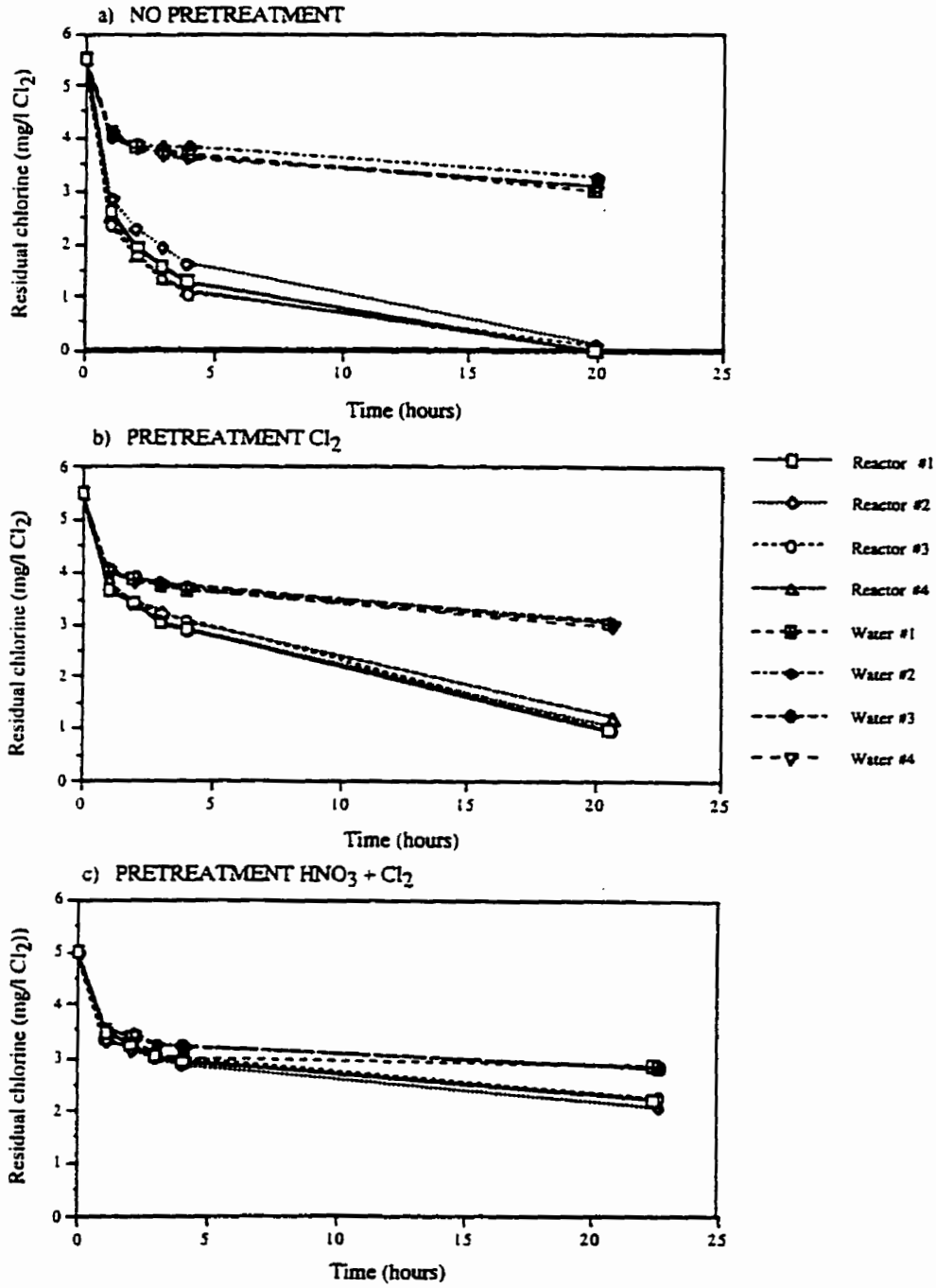


Figure 3.34 Chlorine demand of a polycarbonate annular reactor (chlorine dosage of 5 mg Cl_2/l) a) no pre-treatment; b) pre-treatment with 100 mg Cl_2/l for 1 hour; c) pre-treatment with HNO_3 (10%) wash (1 hour) and chlorination (100 mg Cl_2/l) for 3 days

which is subtracted the chlorine demand of the water (estimated in parallel in glass vessels). Without any pre-treatment, most of the added chlorine is consumed within 4 hours. If the polycarbonate is pre-conditioned by a superchlorination (100 mg Cl_2/l for 1 hour), total and short term chlorine demand are decreased but remain unacceptably high. Following a more stringent pre-treatment including nitric acid wash (10% vol/vol for 2 hours) and superchlorination (100 mg Cl_2/l for 3 days), short term chlorine demand is reduced drastically. Even after such a pre-treatment, the long term chlorine demand is not eliminated, as shown by the difference between the residual chlorine concentrations in the water vessels and the reactors. This long term chlorine demand is equivalent to 3.1 mg $Cl_2/m^2 \cdot d$. In light of these results and given the facts that 1) chlorinated reactors had residence time of 1h, 2) chlorine dosages applied were much lower than the ones used for the chlorine demand studies (1.5 mg Cl_2/l versus 5.0 mg Cl_2/l), short term chlorine demand by the polycarbonate substratum was considered negligible under the experimental conditions used.

Figure 3.35 and 3.36 present the densities of fixed and suspended bacteria in the reactors before and after the onset of chlorination. Chlorination was initiated on July 14 with a chlorine dosage of 1.5 mg Cl_2/l. The biofilm densities measured by the PEPA method on the polycarbonate reactors were lower than those found in the grey iron reactors earlier on in the season (Figures 3.24 and 3.31). Two factors may explain these differences: 1) the surface/volume ratio is significantly higher for the polycarbonate reactors (1.9 cm^{-1}) than for the grey iron reactors (1.2 cm^{-1}) leading to a lower substrate flux rate; 2) the metal substratum supports more biomass than inert polycarbonate.

Our results are in concordance with those of Camper *et al.* (1995a) showing higher densities on mild steel surfaces than on polycarbonate. Higher densities on grey iron may be caused by the presence of a large number of attachment sites developed by corrosion (LeChevallier *et al.*, 1993) or by the beneficial influence of autotrophs on the heterotrophic biofilm. The accumulation of corrosion by-products may also create hydraulic niches.

Unlike results with the grey iron reactors, the fixed biomass in the reactor operated at 15 hour residence time was much lower than found in the 1 hour residence time reactor. The experiment using the polycarbonate reactors was completed during the summer after the experiments with grey iron reactors. Water temperature varied around 20°C. The lower density of fixed biomass in the 15h polycarbonate reactor may have resulted from the increased growth rate of the biofilm in the 1h reactor. With this growth occurring in the first reactor, biodegradable organic carbon was probably consumed before reaching the second reactor (15h RT).

Chlorination had a major impact on the density of fixed biomass, even though low dosages were applied. This effect was important in the reactor operated at 1 hour of residence time and carried over to the reactor operated at 15 hour of residence time. A decrease of almost 2 log of the biofilm biomass was observed in the 1h reactor, while a 1 log decrease was measured in the reactor operated at 15h residence time.

Numbers of suspended bacteria in the influent and effluent of the different reactors varied within a small range showing no clear trends resulting from the effects of residence time and chlorination.

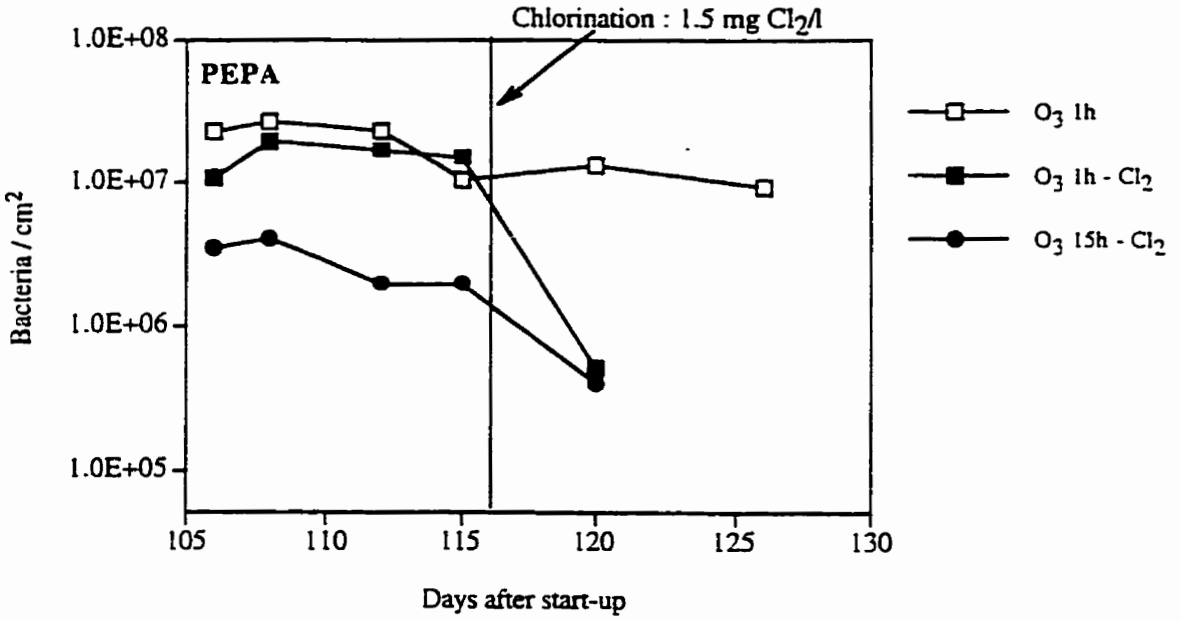


Figure 3.35 Biofilm densities(PEPA) in the polycarbonate annular reactors

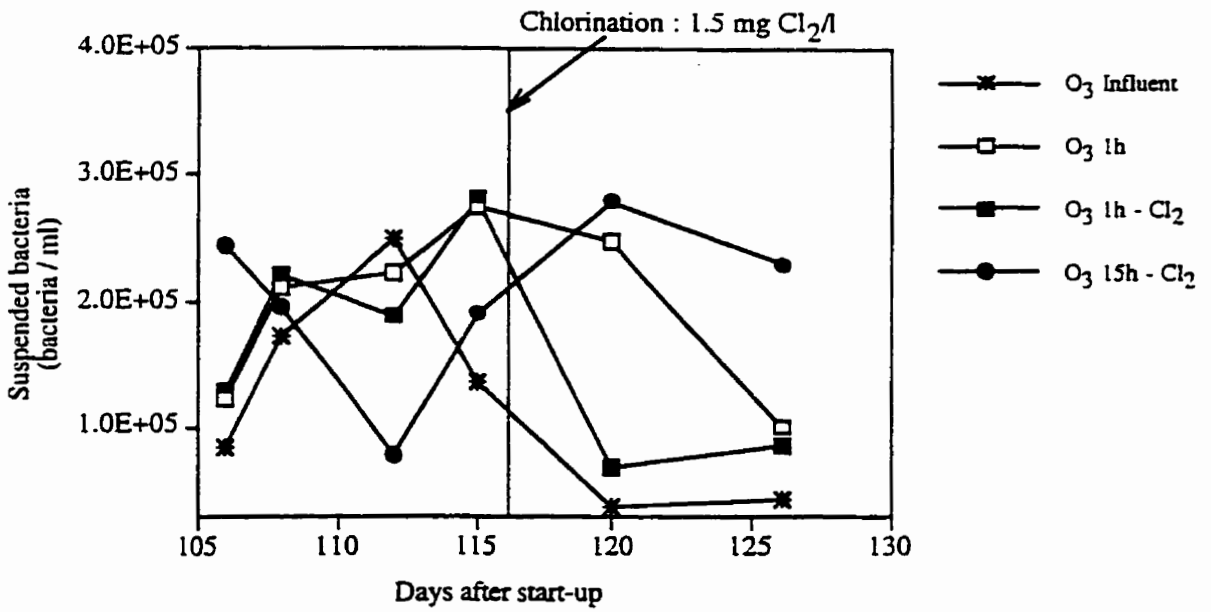


Figure 3.36 Enumeration of suspended bacteria (AODC) in influent and effluent of polycarbonate annular reactors

Identification of bacterial isolates from the annular reactors

Most of the environmental biofilm isolates from the annular reactors (> 92%) were identified directly or by genus grouping using the MIDI systems. Table 3.15 shows the distribution of Gram+ and Gram- of biofilm isolates from the annular reactors according to residence time and water temperature.

As observed in the full-scale DS, more Gram+ bacteria were isolated in cold water than in warm water. The preponderance of Gram- bacteria decreased with increasing residence time, again in concordance with experimental results from the full-scale DS. In warm water, nearly all isolates collected near the treatment plant and most of the isolates from the high residence time sampling point were Gram- bacteria. Very little difference is noted when comparing the two sets of reactors (ozonated / nutrient rich versus BAC filter effluent / nutrient poor). The reactors fed by BAC filter effluent did show a higher proportion of Gram+ organisms in cold water, but no clear trends appeared in warm water.

The compilation of the bacterial genus identified in the annular reactors is consistent with data about the distribution by Gram staining (refer to Table 3.5). Most of the genus identified are found in both systems and, apart from a larger number of *Bacillus* and *Hydrogenophaga* in the ozonated reactors, very few differences in speciation were found.

Trends in diversity and composition caused by residence time can be more easily seen by studying Figures 3.37 to 3.44 showing the distribution of the bacterial populations identified with the MIDI systems for the two sets of reactors in warm and cold waters. No clear trends in function of residence time can be established from these figures.

As results from the annular reactors were obtained without any oxidant, the differences between the two sets of reactors can be attributed to the level of nutrients and the composition of the suspended bacterial populations serving as seed bacteria to the biofilm. pH values were not exactly the same in the two sets of reactors, values being lower in BAC filter effluent fed reactors. This may have contributed also to the small differences observed.

When compared to samples from the full-scale DS, biofilm isolates from the annular reactors were much less diversified. The cause of this lack of diversity in annular reactors is not known, but a number of factors may have contributed to these differences:

1) the annular reactors were operated for a limited period of time (less than 6 months) whereas the coupons in the full-scale DS were on line longer. It is likely that a longer period of time is necessary for a well diversified biofilm to be established;

2) the annular reactors from which the biofilm samples were taken were never chlorinated. The full-scale distribution systems studied received water which had been chlorinated using Cl_2 or ClO_2. Chlorination will affect the composition of the bacterial populations entering the system and possibly the composition of the biofilm;

3) the annular reactors were operated at pH values lower than those found in the full-scale DS;

4) the structure of the corrosion deposits differed visually on the coupons from the full-scale DS and the annular reactors. Very important differences existed in operational conditions for these two systems as far as hydraulic conditons and the presence of oxidant residuals, which impact on the accumulation and speciation of the metal oxides.

Here again, the same reservations apply as mentioned previously when commenting the results from full-scale DSs. The fact that changing the nutrient level did not result in changes in the composition and diversity of the populations isolated may again be limited by our ability to isolate a representative population by plate culture.

Table 3.15 Proportion of the Gram+ and Gram- bacteria isolated from the grey iron annular reactors

Annular Reactors	COLD WATER				WARM WATER			
	Reactors 1h Rt		*Reactors 15h Rt*		*Reactors 1h Rt*		*Reactors 15h Rt*	
	Gram +	*Gram-*	*Gram +*	*Gram-*	*Gram +*	*Gram-*	*Gram +*	*Gram-*
Fed by ozonated water	32.6%	67.4%	20.0%	80.0%	6.1%	93.9%	0.0%	100%
Fed by BAC filtered water	56.5%	43.5%	34.0%	66.0%	0.0%	100%	16.3%	83.7%

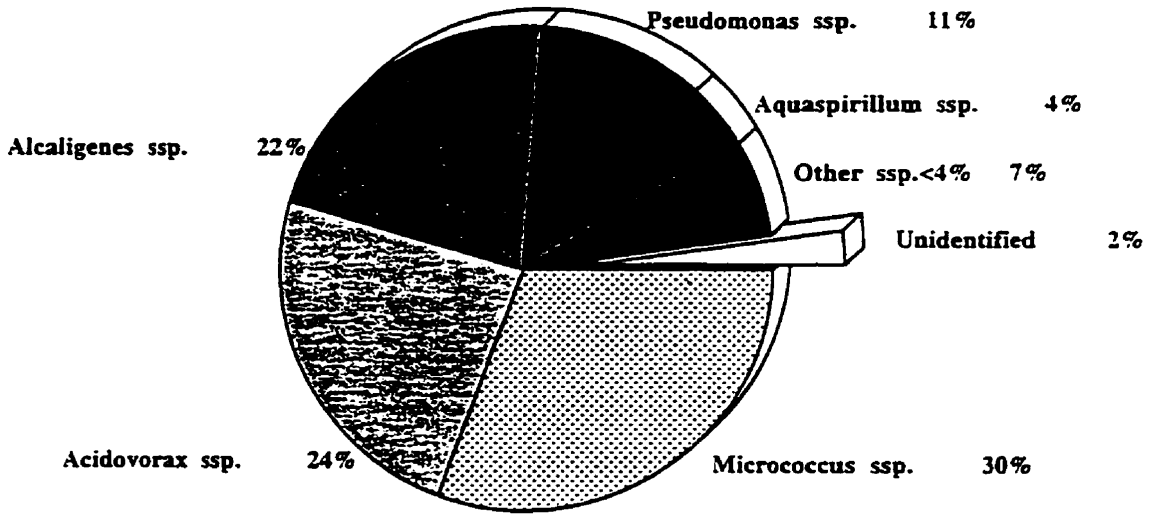


Figure 3.37 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with ozonated water and operated at a low residence time (1h) in cold water

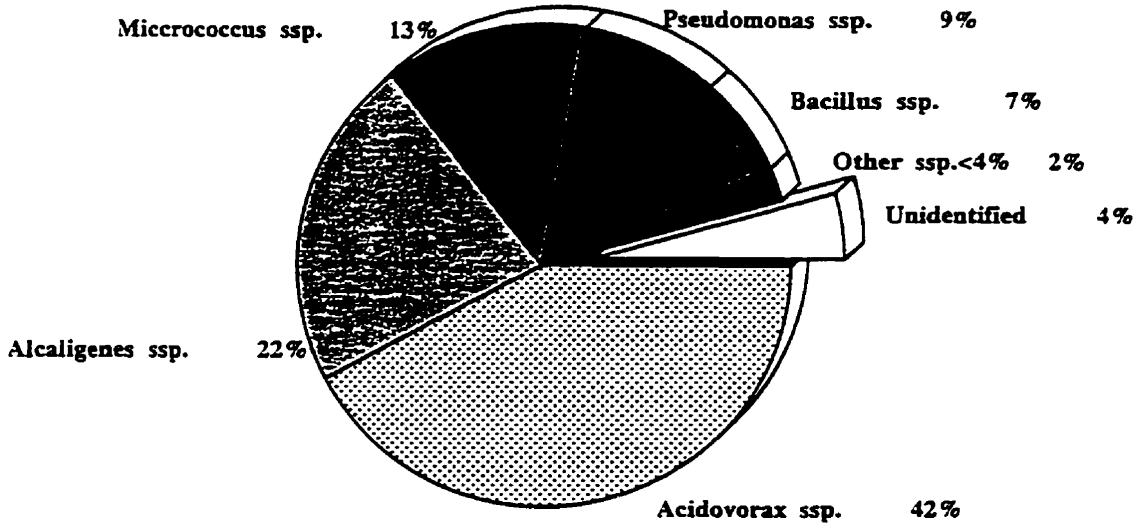


Figure 3.38 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with ozonated water and operated at a high residence time (15h) in cold water

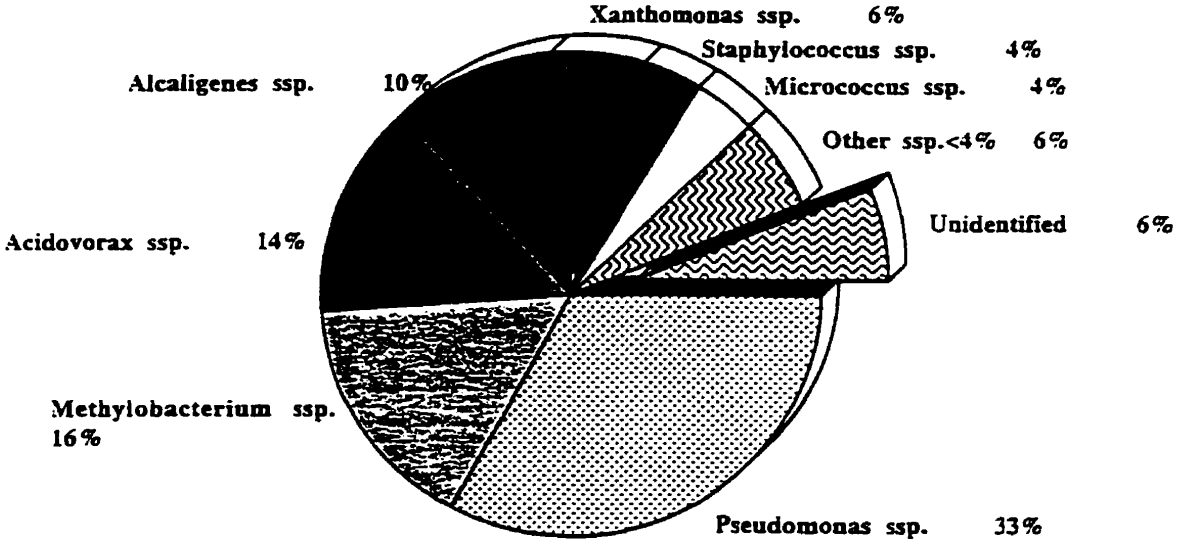


Figure 3.39 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with ozonated water and operated at a low residence time (1h) in warm water

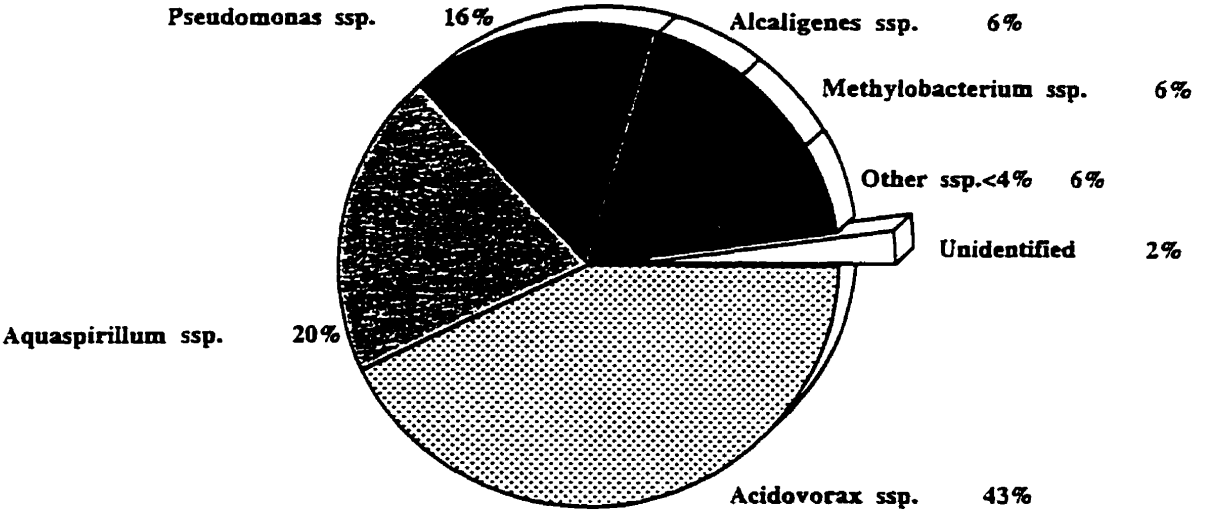


Figure 3.40 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with ozonated water and operated at a high residence time (15h) in warm water

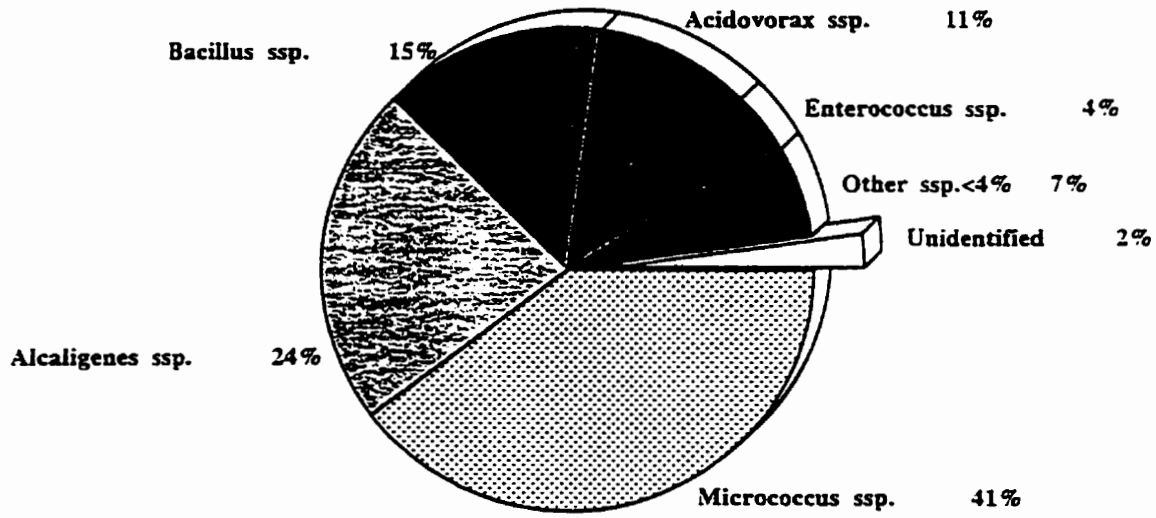


Figure 3.41 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with BAC filter effluent and operated at a low residence time (1h) in cold water

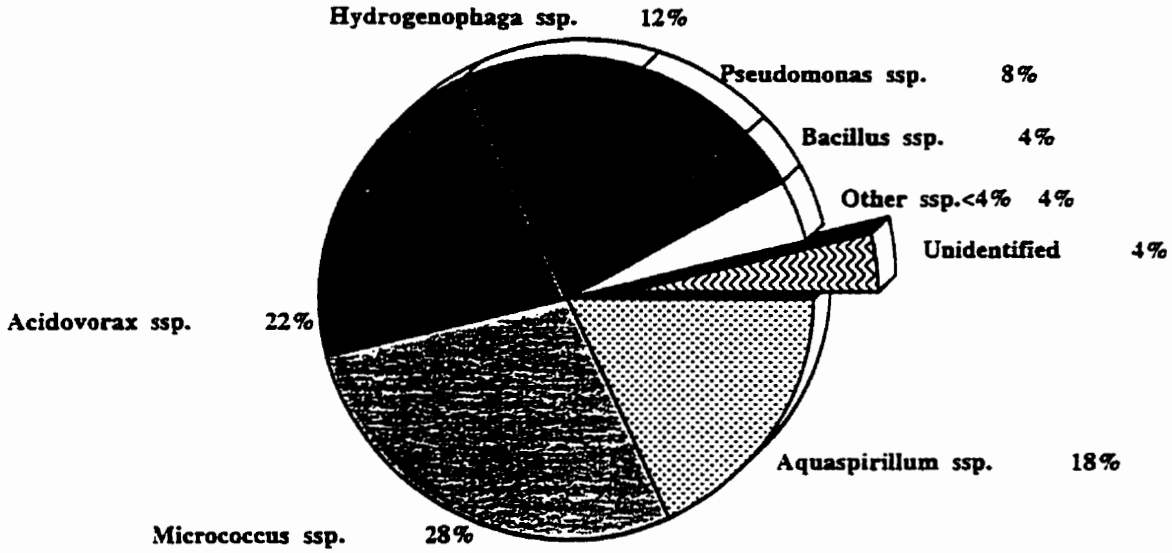


Figure 3.42 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with BAC filter effluent and operated at a high residence time (15h) in cold water

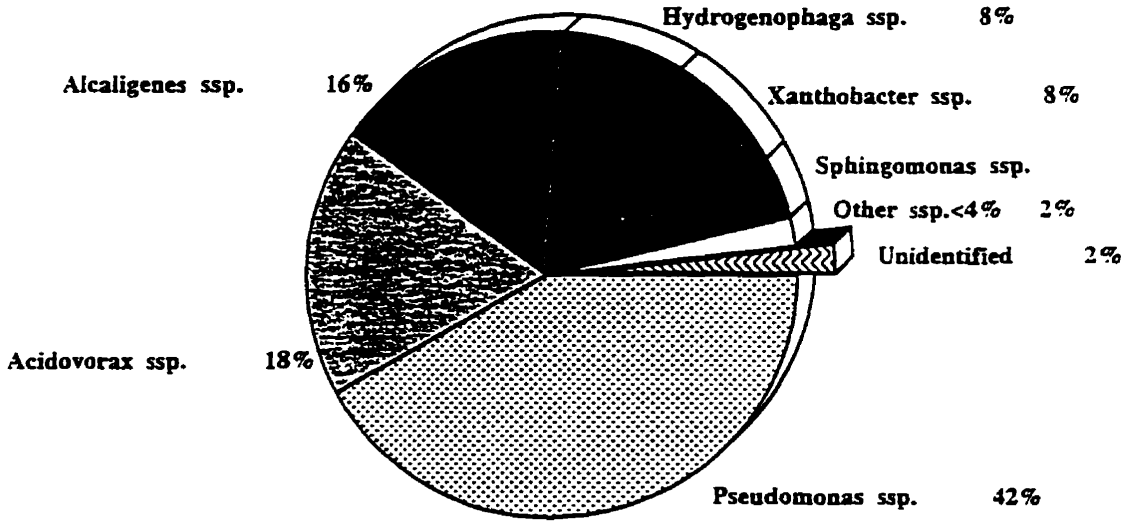


Figure 3.43 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with BAC filter effluent and operated at a low residence time (1h) in warm water

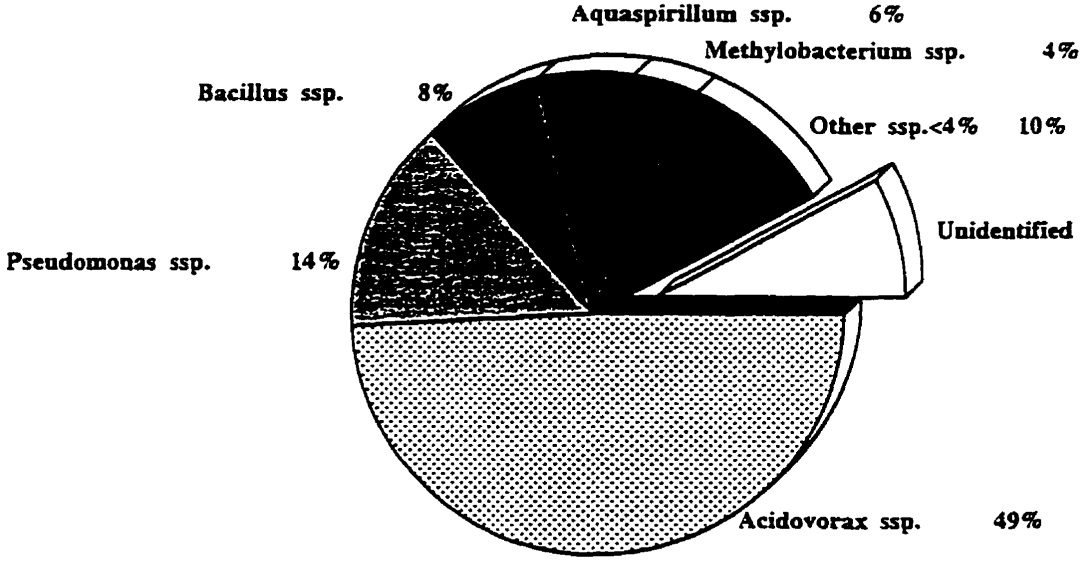


Figure 3.44 Bacterial populations isolated from the annular reactors fed with BAC filter effluent and operated at a high residence time (15h) in warm water

Comparison of the densities of fixed bacteria in annular reactors and full-scale distribution systems

The results obtained using the annular reactors may be compared to results obtained from the full-scale distribution systems. Results of biofilm densities in the reactors fed with ozonated water can be compared with those from the Pont Viau and Chomedey DSs (Figure 3.45). These DSs are fed by treatment plants which include post-ozonation as the last step before chlorination. Overall BDOC levels of the Chomedey and Pont Viau plant effluents were higher than those found in the effluent of the St.Rose treatment plant. Densities of fixed biomass from the St.Rose DS were compared with those found in the reactors fed with BAC filtered water (Figure 3.46).

Care must be taken when comparing results from annular reactors operated under steady conditions and results from a full-scale DS operated under dynamic unsteady conditions.Although annular reactors were operated in series to simulate the gradients of nutrients and suspended biomass in DS, operating conditions were fundamentally different. Equivalent densities of biomass were not expected but similar trends were.

For the ozonated water with high BDOC content, trends according to residence time are similar in reactors and full-scale systems. The densities of fixed biomass were always higher in annular reactors than in the full-scale DS (Figure 3.45). This difference was more pronounced at short residence times (about 1h) where chlorine residuals are maintained at all time. Biofilm was established in the presence of chlorine in the full-scale DSs and in the absence of chlorine in the annular reactors. At higher residence times, chlorine residuals in the DS were lower or below detection limit in the full-scale DS and the differences between the two systems were less pronounced, at least when using the PEPA method to measure biofilm density.

In the case of the St.Rose DS and the reactors fed with BAC filter effluent (low BDOC) again similar trends with increasing residence time were observed between the two types of systems. In nutrient poor situation, it appears that the method used to monitor biomass density has an impact on the extent of the differences observed. With the HPC method, differences reached almost 2 log, whereas less than 1 log of difference was observed when the PEPA method was used to measure fixed biomass. This is not surprising since starvation has been shown to affect the ability of bacteria to be cultured.

Higher biofilm densities in annular reactors when compared to a pilot loop DS have also been reported by Camper *et al.* (1995c). A ratio of about 12:1 of biofilm densities by HPC enumeration in annular reactors to pipe loops using the HPC method. These authors did not identify the cause of this difference.

Many factors may have contributed to the differences between results in reactors and full-scale DS such as:

1) <u>the materials:</u>
The preponderant role of corrosion in controlling biofilm can be drawn from the difference of results between the grey iron and polycarbonate reactors. Full scale distribution system values are closer to the biofilm densities observed in polycarbonate reactors. The full scale DS is composed of various materials including cement, cement lined cast iron, grey iron and steel. Reactors were operated at a pH lower than the values in full-scale DS. This lower pH favoured rapid and drastic corrosion which may have increased the density of biofilm.

2) <u>the surface to volume ratio:</u>
The surface to volume ratio in the annular reactors is much larger than the average pipe size in full-scale distribution systems. The surface to volume ratio of an annular reactor is equivalent to that of a 21 mm diameter pipe. The surface to volume ratio in a completely mixed reactor defines the substrate loading per unit of time and influences the adsorption and desorption of bacteria to the biofilm. In annular reactors, it is kept constant while it

varies in full scale DSs.

3) the hydraulic conditions:
Hydraulic conditions in full-scale DS vary widely in response to water usage every day. The full-scale DS data used for this comparison were collected from sampling points with an average residence time approaching the constant residence time in the reactors. Actual residence time at these points may vary by up to 100% during the day. Changing flow rates also bring large changes in sheer stress in full-scale DS. It may be possible that changing sheer stresses are an important factor in determining the density of the biofilm, and that maximum sheer stresses more or less shave the biofilm. Sheer stresses are constant in annular reactors. The last factor which may influence biofilm density through the effect of sheer stress is pressure. Distribution systems are operated under pressure of 400 to 650 kpa (60 to 90 psi) whereas the annular reactors used are not pressurized. The long term impact of pressure and changing sheer stresses on fixed biomass is full-scale DS remains to be established.

Finally the most fundamental difference between annular reactors and full-scale DS is the type of bioreactor. Annular reactors are completely mixed systems. Full-scale DS are plug-flow type of systems with some local mixing and changing of flow patterns. Because of the nature of the bioreactor, full-scale DS harbour a gradient of substrate, oxidant residual, fixed and suspended biomass, pipe material and even temperature.

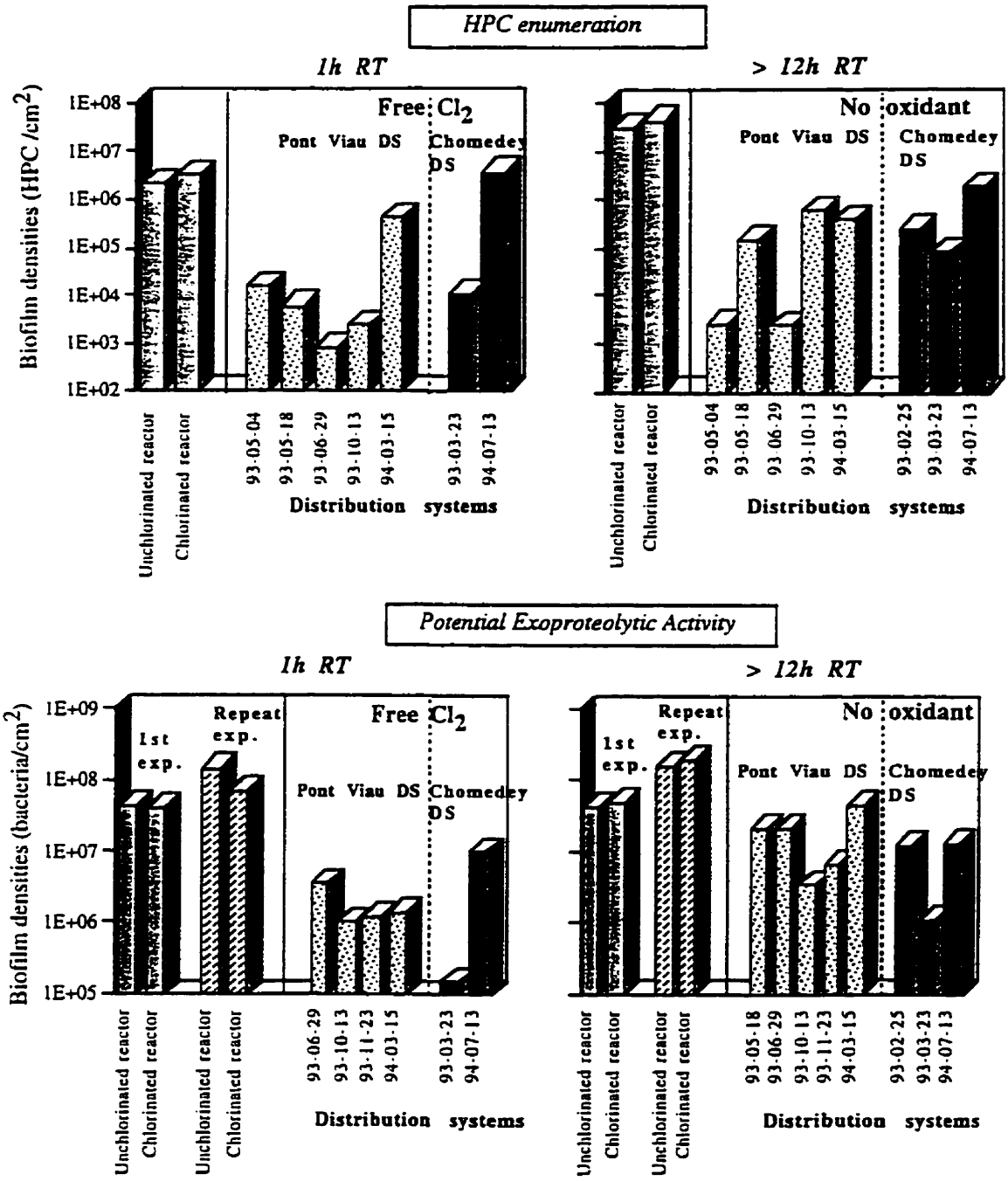


Figure 3.45 Comparison of biofilm densities measured by the PEPA method and by HPC enumeration in annular reactors fed with ozonated water and in the Pont Viau and Chomedey distribution systems

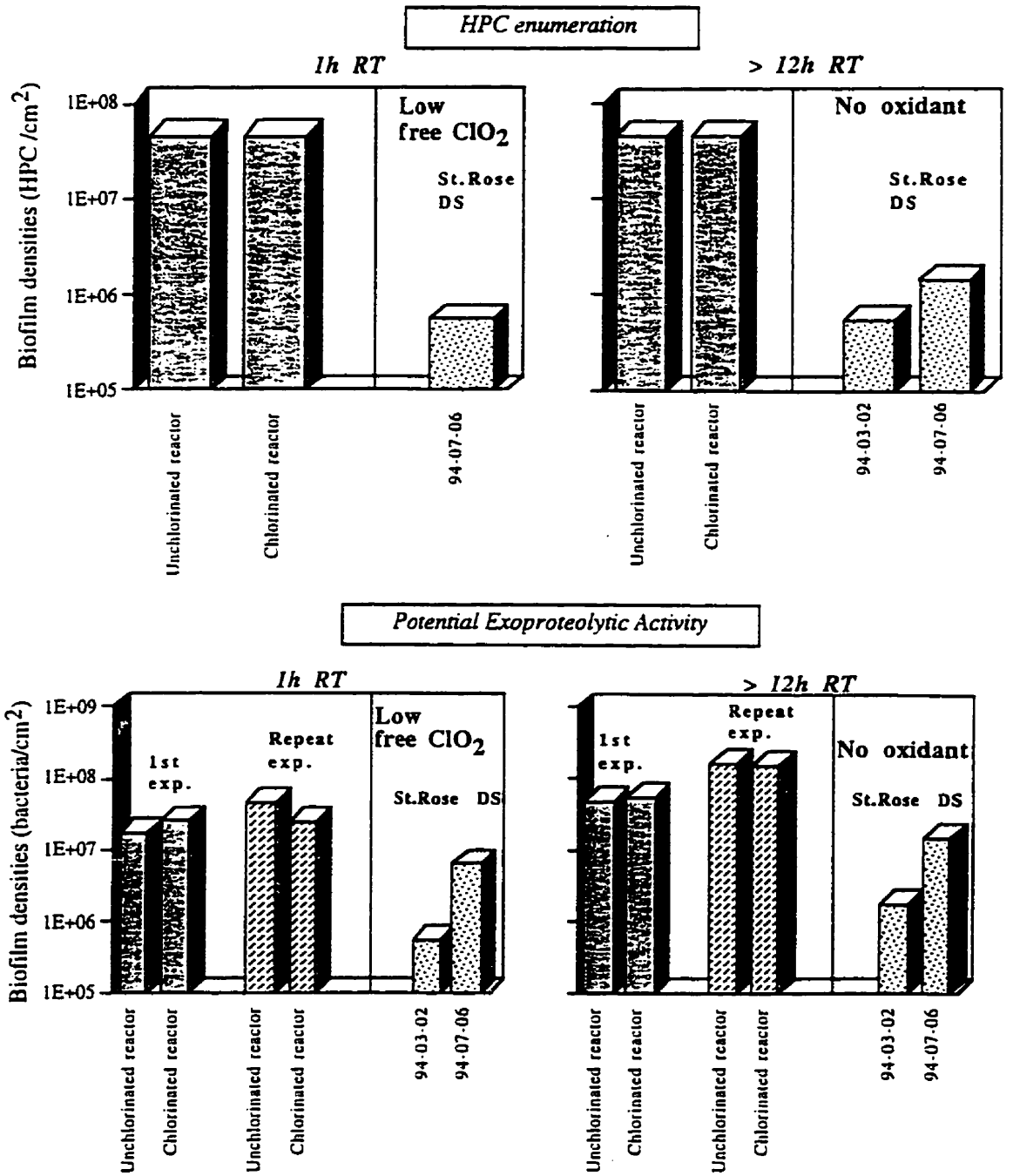


Figure 3.46 Comparison of biofilm densities measured by the PEPA method and by HPC enumeration of the biofilm in annular reactors fed with BAC filter effluent and in the St.Rose distribution system

Conclusion

A number of research studies have been carried out with the aim of evaluating the cause and defining the means of controlling bacterial regrowth in distribution systems. It is now known that several factors may influence regrowth in DS. The strategy most often employed to control regrowth is disinfection, but this strategy has on many occasions proved to be ineffective in eliminating both HPCs and coliform bacteria from distribution systems. The relative inefficiency of chlorine in inactivating biofilm and the difficulties in maintaining chlorine residuals in corroded pipes are serious limits of this strategy. The second strategy consists of lowering the nutrient levels entering the distribution system, biodegradable organic carbon most likely being the limiting nutrient.

The levels of biodegradable organic matter (BOM) entering the distribution system are influenced by the BOM content of the raw water and by the treatment processes present at the treatment plant. Background BOM levels, which may vary from negligible to very high, may be reduced by some treatment processes such as coagulation and flocculation. If ozonation is included in the treatment train to disinfect or to control taste and odour control, additional BOM will be formed, increasing the regrowth potential. Biological filters placed down flow of ozonation will remove some of the BOM, mostly the easily biodegradable fraction, reducing the nutrient loading available to sustain biofilm growth in the DS. GAC is an excellent support for biomass in rapid filters and GAC filters operated on a biological mode are referred to as biological activated carbon (BAC) filters. The combination of ozonation and biological filtration will also decrease the chlorine demand, stabilize chlorine residuals and contribute in limiting the levels of DBPs formed.

Since 1984, the City of Laval has been using biological treatment (ozonation and BAC filtration) at full-scale at the St.Rose water treatment plant in addition to operating two other treatment plants which use conventional treatments followed by ozonation (Chomedey and Pont Viau). These three plants use surface source water of similar quality. Their DSs are interconnected but each plant has its own zone of influence. Because of this unique situation, it is possible to study the effect of biological treatment at full-scale by comparing regrowth in these three DSs.

The results of the study of full-scale DS established that the maximal bacterial densities at sampling points in the St.Rose DS (low nutrient from biological treatment) and those in the Chomedey and Pont-Viau DSs (high nutrient from ozonation) were not very different. Temperature was shown to be an important factor with higher biofilm densities measured in summer. The distribution of biomass densities as a function of residence time differed between the two types of DSs. In the case of the nutrient rich DS, biomass peaked at mid-point of the DS after the disappearance of chlorine residual. In the case of the nutrient poor DS, biomass decreased slowly with residence time. These results suggest that the total biomass produced in the St.Rose DS was less than those in the two other DSs.

Determining the effect of a factor like variation in BDOC in a full-scale DS is not an easy objective to achieve. Several factors come into play in a distribution DS and it is very difficult to attribute a difference in bacterial density to a decrease in BDOC only. In the Laval DSs, important differences other than BDOC levels were present, such as the type and dosage of oxidant and pipe materials. Due to the complexity and interdependence of several factors which regulate bacterial growth in DSs, tests with annular reactors were conducted in parallel with the DS study in order to validate the full-scale results. It was expected that clearer conclusions could be drawn from results obtained using these semi-controlled more simple systems, even if they were fed with plant water.

The experiments using annular reactors focused on measuring the effect on regrowth of reducing BDOC levels through BAC filtration. Residence time and chlorination were introduced as design variables. In addition, the effect of pipe material was studied by comparing results in reactors made of corroded grey iron or inert polycarbonate.

The studies conducted with annular reactors demonstrate that, in the absence of disinfectant, reducing BDOC by biological filtration will decrease the density of heterotrophic biofilm. This

effect of biological filtration was clearly observed at a short residence time, simulating a point of the DS located near the plant, where the easily biodegradable substrate is consumed. In reactors operated at 15 hours of residence time, no differences in densities were measured, suggesting the role of BAC filtration in controlling regrowth at the front end of the distribution system. Constant chlorination of the reactors at doses of 1 and 1.5 mg Cl_2/l for more than a month did not satisfy the entire chlorine demand of the annular reactors. Very significant corrosion on the interior surfaces of the grey iron annular reactors exerted a significant chlorine demand in addition to providing attachment sites for the bacteria and to protecting them subsequently against the action of the chlorine. Chlorination did not really reduce the densities of fixed bacteria, demonstrating the inability of chlorine to control biofilm established on corroded iron surfaces. Chlorination did impact on the total number of suspended bacteria (AODC), applied chlorine dosages being too small to cause cell lysis.

Both in the absence and in the presence of oxidant, the importance of the pipe material on the growth of biofilm was obvious. Indeed, the experimental results showed a major difference between the densities of the biomass fixed on corroded grey iron and those fixed on polycarbonate in the absence of chlorine. This difference, attributable to the nature of the material, is greater than that attributable to a reduction in the concentration of BDOC by biological filtration. In the presence of chlorine, an immediate reduction of the fixed biomass in the polycarbonate reactors was measured, and this effect was carried over to the reactor operated with 15 hours of residence time. Perhaps the most important conclusion on these studies is that, for the Laval water, corrosion control is more important than BDOC control or chlorine residual maintenance in determining the levels of fixed bacteria.

Before concluding on the impact of biological filtration on regrowth, some caution must be taken. Biofilm densities are no doubt a good indicator of regrowth but additional understanding would be gained by taking into account the activity and the composition of the biofilm. Some information about the biofilm composition were obtained by the fatty acid profile identifications. These identifications suggest that reducing BDOC by biological filtration will not impact greatly on the speciation and diversity of bacteria in the biofilm, such as was demonstrated in the annular reactor studies. Results from full-scale DSs suggested otherwise. It may be that other factors in the full-scale systems, such as the type and dosage of disinfectants, caused the differences in speciation and diversity. It is to be remembered that bacterial identifications based on the MIDI systems require a step of plate culture and are influenced by the culturability of the bacteria extracted. Biological filtration is often associated with an increase in bacterial load in the water discharged by a biological treatment train. This study has shown that biological filtration at the St.Rose plant did not increase the bacterial load entering the DS. This is true both of the full-scale DS and of the annular reactors, where we recorded comparable values for the two types of treatment.

In spite of the fact that the biofilm densities were always higher in the annular reactors than the values measured in the City of Laval DSs, annular reactors are good diagnostic tools. Trends seen in annular reactor were also observed in full-scale DSs. Differences in values are to be expected given the discrepancies in operational conditions between real DS and annular reactors. Annular reactors are much easier and cheaper to use than coupon devices on full-scale DS.

Finally, modelling should used to interpret data from full-scale DS. In the absence of a model taking into account the effects of chlorination, nutrients, temperature and residence time, it is difficult to compare biofilm densities resulting from different combinations of environmental conditions (temperature, oxidant residual, residence time, etc...). In simple systems, such as the annular reactor, modelling is a useful tool for research, but data generated can be directly be used by utilities to predict general trends.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research project was funded in part by the Quebec Ministry of Environment, the National Research Council of Canada (NSERC), the City of Laval and the AWWA Research Foundation. The authors would like to acknowledge the work of the students Patrick Laurent, Carl Gauthier and Rouja Serkedjieva and Jacinthe Mailly, research assistant. Design, sampling and operations involved by Denis Allard, Stéphane Perron and Sylviane Desautels, technicians. Technical support was provided by the City of Laval in the treatment plant (Normand Arcouette, plant supervisor), in the laboratory (Daniel Duchesne, chemist), to install sampling devices and to estimate DS residence times (Yves Blondeau).

REFERENCES

American Public Health Association (APHA). 1992. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.* 18th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.

Camper, A.K., M. W. LeChevallier, S.C. Broadway, and G.A. McFeters. 1985. Evaluation of Procedures to Desorb Bacteria from Granular Activated Carbon. *J. Microbiol. Methods.* 3:187-198.

Camper, A.K., J.T. Hayes, W.L. Jones, W.L., and N. Zelver. 1993. Persistence of Coliforms in Mixed Population Biofilms. In *Proc. of the AWWA - WQTC Conference.* Miami, Florida, USA.

Camper, A.K., W.L. Jones, and J.T. Hayes. 1995a. Effect of Growth Conditions and Substratum Composition on the Persistence of Coliforms in Mixed Population Biofilms. Submitted to *Appl. Envir. Microbiol.*

Camper, A.K., W.L. Jones, G. Lu, and J. Borkowski. 1995b. Influence of Water Quality Parameters on Biofilm Growth in Model Drinking Water Distribution Systems. Submitted to *Jour. AWWA.*.

Camper, A.K., N. Zelver, W.L. Jones, and J. Borkowski. 1995c. Physical Distribution System Models for Assessing Regrowth: Pipe Loops and Annular Reactors. Submitted to *Jour. AWWA.*

Characklis, W.G., and K.S. Marshall editors. 1990. *Biofilms.* John Wiley and Sons, New York, USA.

Herson, D.S., B. McGonigle, M.A. Payer, and K.H. Baker. 1987. Attachment as a Factor in the Protection of *Enterobacter cloacae* from Chorination. *Appl. Environ. Microbiol.* 53(5):1178-1180.

Hobbie, J.E., R.H. Daley, and S. Jasper. 1977. Use of Nuclepore Filters for Counting Bacteria by Fluorescence Microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 33:1225-1228.

Laurent, P. 1995. Colonisation bactérienne des réseaux de distribution: étude expérimentale et modélisation. Ph.D. Thesis, Université Libre de Bruxelles, Belgium. 185 p.

Laurent, P., and P. Servais. 1995. Fixed Bacterial Biomass Estimated by Potential Exoproteolytic Activity. *Can. J. of Microbiol.* 41(8):749-752.

LeChevallier, M.W., T.M. Babcock, and R.G. Lee. 1987. Examination and Characterization of Distribution System Biofilms. *Appl. Envir. Microbiol..* 53:2714-2724.

LeChevallier, M.W., A.E. Cawthon, and R.G. Lee. 1988. Factors Promoting Survival of Bacteria in Chlorinated Water Supplies. *Appl. Env. Microbiol.* 54:649-654.

LeChevallier, M.W., C.D. Lowry, and R.G. Lee. 1990. Disinfection of Biofilms in a Model Distribution System. *Jour. AWWA.* 82(7):87-99.

LeChevallier, M.W., C.D. Lowry, R.G.Lee, and D.L Gibbon. 1993. Examining the Relationship Between Iron Corrosion and the Disinfection of Biofilm Bacteria. *Jour. AWWA.* 85:111-123.

Levy, R.V., F.L. Hart, and R.D. Cheetham. 1986. Occurrence and Public Health Significance of Invertebrates in Drinking Water Systems. *Jour. AWWA.* 78:195-110.

MacLean, R., Prévost, M., Mailly, J. et J. Coallier (1995) A Thiosulfate Interference in the Biodegradable Dissolved Organic Carbon Assay, In press to *Water Research.*

Masschelein, W.J., G. Fransolet, P. Laforge, and R. Savoir. 1989. Determination of Residual Ozone or Chlorine Dioxide in Water With ACVK - An Updated Version. *Ozone Science & Engineering.* 11:209-215.

Mathieu, L., J.C. Block, M. Prévost, A. Maul, and R. DeBischop. 1995. Biological Stability of Drinking Water in the City of Metz Distribution System. *J. Water SRT-Aqua.* 44(5):230-239.

McFeters, G.A., J.S. Kippin, and M.W. LeChevallier. 1986. Injured Coliforms in Drinking Water. *Appl. Environ. Microbiol.* 51(1):1-5.

Payment, P., E. Franco, and J. Siemiatycki. 1993. Absence of Relation Between Health Effects Due to Tap Water Consumption and Drinking Water Quality Parameters. *Wat.Sc.Tech.* 27:137-143.

Prévost, M., A. Rompré, H. Baribeau, J. Coallier, and P. Lafrance. 1996. Impact of Service Lines on the Microbiological Quality of Drinking Water. Accepted for publication *Jour. AWWA.*

Reilly, J.K., and J.S. Kippin. 1983. Relationship of Bacterial Counts with Turbidity and Free Chlorine in Two Distribution Systems. *Jour. AWWA.* 75:309-312.

Ridgeway, H.F., and B.H. Olson. 1982. Resistance Patterns of Bacteria from Two Drinking Water Distribution Systems. *Appl. Envir. Microbiol.* 44:972-987.

Servais, P., G. Billen, and M.C. Hascoët. 1987. Determination of the Biodegradable Fraction of Dissolved Organic Matter in Waters. *Wat. Research.* 21:445-450.

Servais, P., A. Anzil, and C. Ventresque. 1989. A Simple Method for the Determination of Biodegradable Dissolved Organic Carbon in Waters. *Appl. Environ. Microbiol.* 55:2732-2734.

Servais, P., P. Laurent, D. Gatel, and M Prévost. 1994. Modelling bacterial dynamics in distribution systems. In *Proc. AWWA-WQTC Conference.* San Francisco, California, USA.

Servais, P., P. Laurent, and G. Randon. 1995. Comparison of the Bacterial Dynamics in Various French Distribution Systems. *J. Water SRT-Aqua.* 44(1): 10-17.

Servais, P., P. Laurent, G. Billen, and D. Gatel. 1996. Development of a model of BDOC and bacterial biomass fluctuations in distributions systems. In press to *Revue des Sciences de l'eau..*

Sibille, I., L. Mathieu, J.L. Paquin, J.C. Block, P. Harteman, R. Clark, D. Gatel, J. Cavard, V. Lahoussine, and V. Gauthier. 1995. Improvement of Water Quality During Distribution Using Nanofiltration In *Proc.AWWA-WQTC Conference*, New Orleans, Louisiana, USA.

Smith, D.B., A.F. Hess, and D. Opheim. 1989. Control of Distribution System Coliform Regrowth. In *Proc. AWWA-WQTC Conference.* San Diego, California, USA.

Somville, M., and G. Billen. 1983. A Method for Determining Exoproteolytic Activity in Natural Waters. *Limnol. and Oceanography.* 28:190-193.

Van der Wende, R., W.G. Characklis, and D.B. Smith. 1989. Biofilms and Bacterial Drinking Water Quality. *Wat. Research.* 23:1313-1322.

ANNEXE 2 :

ÉTUDE DE L'ÉVOLUTION DES ACIDES AMINÉS TOTAUX DANS DEUX FILIÈRES DE TRAITEMENT D'EAU POTABLE

Hureïki, L., Gauthier, C., Prévost, M. et Lafrance P. (1996), Revue des Sciences de l'Eau., 3, 297-318.

ÉTUDE DE L'ÉVOLUTION DES ACIDES AMINÉS TOTAUX DANS DEUX FILIÈRES DE TRAITEMENT D'EAU POTABLE

L. HUREÏKI, C. GAUTHIER et M. PRÉVOST

Génie Civil, Section Environnement
Chaire Industrielle CRSNG sur l'Eau Potable
École Polytechnique de Montréal, CP 6073, succ. Centre -Ville
Montréal, Québec, Canada H3C 3A7

RÉSUMÉ

Cette étude présente un suivi de l'enlèvement des acides aminés totaux par les différentes étapes de traitement de deux usines canadiennes de la Ville de Laval (Québec, CANADA). L'influence de la saison sur l'efficacité de l'enlèvement ainsi que le devenir des acides aminés dans les réseaux de distribution de ces usines ont aussi été étudiés.

D'une manière générale, l'étape de coagualtion-floculation-décantation permet un enlèvement important d'acides aminés totaux (34 à 72%), l'effet de la filtration sur sable et anthracite est subtil et dépend de la saison, l'ozonation provoque une augmentation (20 à 100%) et la filtration CAB permet un enlèvement en eau tiède (25 à 34%), mais semble relarguer en eaux froide (54%). Finalement, la post-désinfection au chlore permet un enlèvement supplémentaire (47%) à cause de la réactivité de cet oxydant envers les acides aminés. La post-désinfecton au bioxyde de chlore permet elle aussi un enlèvement supplémentaire (12 à 39%) malgré la fait que cet oxydant soit moins réactis envers les acides aminés. L'enlèvement des acides aminés totaux avant la chloration est préférable afin de limiter la formation de SPDs.

Pour les eaux étudiés, les acides aminés totaux représentent plus de 42% du CODB de l'eau brute et plus de 45% de l'effluent des filtres CAB. Nous n'avons pas décelé de corrélation directe entre le CODB et les acide aminés totaux, que ce soit en usine ou en réseau. Les acides aminés totaux restent stables dans les réseau de distribution; leur évolution ne permet donc pas d'expliquer la recroissance bactérienne qui y est observée.

SUMMARY

Low concentrations of free and combined amino acids are found at every stage of water treatment (LE CLOIREC-RENAUD, 1984; SCULLY *et al.*, 1988; BERNE *et al.*, 1994). A decrease in amino acid concentration has been observed after settling (Le CLOIREC *et al.*, 1983; LE CLOIREC-RENAUD, 1984), while ozonation has been shown to increase free amino acid concentrations. BAC filtration may also decrease the concentration of total amino acids (JADAS-HÉCART, 1989, BERNE *et al.*, 1994).

Total amino acids represent a small fraction of dissolved organic matter (1 to 3% of DOC), but account for an important part of the chlorine demand of treated water (JADAS-HÉCART, 1989; HUREIKI *et al.*, 1994). Moreover, recent work by HUREIKI *et al.*, (1994) has suggested that some amino acids found in surface waters may represent a significant fraction of the precursors of some organohalogenated disinfection by-products (DBP). It is also possible that total amino acids amount to an important fraction of biodegradable organic carbon (BOC). These characteristics of the amino acids suggest that removing them by treatment will improve water quality, both from a biological and a chemical (DBP) stabilty standpoint.

The objectives of the research described in this paper were to:

(1) assess the seasonal variability of the removal of free and combined amino acids by different treatment processes in two Canadian water treatment plants from Laval City (Québec, CANADA);

(2) monitor the fate of total amino acid in the distribution systems of these two plants with the objective of correlating total amino acids.with biodegradable organic carbon (BOC) and fixed bacterial density.

Sampling was conducted in two water treatment plants: the St. Rose water treatment plant (100 000 m^3/d) which uses conventional treatment (dynamic settling and dual-media filtration on sand and anthracite) followed by ozonation, pH adjustment, and post-chlorination using either chlorine or chlorine dioxide. The second plant studied is the Chomedey water treatment plant (180 000 m^3/d) in which the following processes are used: conventional treatment (dynamic settling and dual-media filtration on sand and anthracite) followed by ozonation, second stage filtration on biological activated carbon (BAC), pH adjustment, and post-chlorination using chlorine dioxide. Samples were collected in the two distribution systems according to the residence time of the water calculated by a hydraulic model. Samples were taken directly from small (15cm. dia) ductile iron pipes.

Results of the monitoring of the treatment plants show a very strong decrease of total amino acids by coagulation-floculation-settling (34 to 72%). First stage dual-media filtration may increase or decrease the concentrations of total amino acids present depending on the time of year. Ozonation increases, in all but one case, the concentration of total amino acids (20 to 100%). To document the source of this increase, we verified the yields of hydrolysis of amino acids found in natural matrix under different conditions of hydrolysis. The objective of this experiment was to verify if more stringent hydrolysis conditions would liberate some amino acids linked to more complex structures found in natural waters. If this was the case, it would explain why we obtained higher concentrations of total amino acids after ozonation. Results showed that the conditions of hydrolysis used by BERNE *et al.* (1994) are optimal for recovery in the natural water studied (sand and anthracite filter effluent).

Total amino acids were decreased by BAC filtration in warm water (25 to 34%) but increased in cold water (+35%). This could either be related to the slower kinetics of hydrolysis of combined amino acids by the fixed biomass or by the form in which amino acids are present in the winter matrix. The expected effect of chlorination on total amino acids was observed with a decrease of 47% at the post-chlorination step. Some impact of chlorine dioxide was noted although it is believed that chlorine dioxide will not readily react with free and combined amino acids. This effect was most pronounced in cold water and could be related to the fact that chlorine dioxide in full-scale plants is produced in the presence of excess chlorine (less than 10%).

The analysis of the composition of total amino acids present in the Mille-Iles River showed that glycine, serine, alanine, leucine, lysine, aspartic acid and glutamic acid are the most commonly found. We observed that the trends of major amino acids present followed the trends observed for total amino acids. This concordance of trends does not reflect the individual characteristics of each amino acid or the ability of a treatment process to remove or transform them. It most probably reflects the ability of each treatment process to remove or transform complex combined forms of amino acids.

In the St. Rose distribution system, we observed stable concentrations of total amino acids regardless of the residence time. In the case of the Chomedey distribution system, concentrations decreased

slightly with residence time, suggesting a greater stability in the DS fed by biologically treated water. . In both cases, levels were very low, close to detection limit: in the St.Rose DS because of biological removal, in the Chomedey DS because of the effect of post-chlorination.

No direct correlation between BDOC and total amino acids was observed. This may come from the fact that total amino acids represent a variable fraction of the total pool of biodegradable organic carbon depending on the source water composition and on the treatment process applied. In the case of the source water studied, total amino acids represented a major fraction of the biodegradable organic carbon pool: more than 42% in raw water and more than 45% in BAC filter effluent. These high proportions may partially be explained by the eutrophic state of our source water and by the method of BOC measurement used.

In conclusion, amino acids represent an important fraction of biodegradable organic carbon which can best be removed by optimized coagulation-floculation and settling, biological treatment and chlorination. It is preferable to remove total amino acids before chlorination in order to limit the formation of undesirable DBPs.

Mots Clés : Acides aminés, Carbone organique biodégradable, Traitement des eaux potables, Réseaux de distribution

Key-Words : Amino acids, Biodegradable organic carbon, Drinking water treatment, Distribution systems

INTRODUCTION

Bien que présents en faibles concentrations dans les eaux de surface, les acides aminés libres et combinés sont retrouvés à toutes les étapes de traitement d'eau potable (LE CLOIREC-RENAUD, 1984; SCULLY *et al.*, 1988; BERNE *et al.*, 1994).

Les effets de différentes étapes de traitement sur la teneur en acides aminés ont été documentés, mais l'évolution récente des techniques analytiques permet de mieux évaluer les concentrations réelles se trouvant dans les eaux potables. Une diminution des acides aminés libres a été observée après floculation-coagulation (LE CLOIREC *et al.*, 1983; LE CLOIREC *et* RENAUD, 1984). Lors d'une étape d'ozonation, une augmentation de la teneur en acides aminés libres a déjà été rapportée (JADAS-HÉCART, 1989; LE CLOIREC-RENAUD, 1984). Par ailleurs, JADAS-HÉCART (1989) a noté une diminution de la teneur en acides aminés libres au niveau de la filtration sur charbon actif biologique (CAB) de l'usine de production d'eau potable de Choisy-le-Roi. Ce phénomène pourrait être attribué à une assimilation biologique. Une diminution des acides aminés totaux a été également notée sur l'eau de l'usine de Méry-sur-Oise lors d'une étape de filtration biologique (BERNE *et al.*, 1994).

Cette fraction du carbone organique dissous, présente à de faibles concentrations (1 à 3 % du COD), constitue une fraction importante de la demande en chlore des eaux traitées (JADAS-HÉCART, 1989; HUREIKI *et al.*, 1994). De plus, des travaux réalisés par HUREIKI *et al.*, (1994) ont montré que certains acides aminés retrouvés dans les eaux de surface sont fortement précurseurs de composés organohalogénés.

La mesure des acides aminés dans les filières de traitement d'eau potable revêt un nouvel intérêt en raison de leur aptitude à la biodégradation. Les acides aminés libres, et les acides aminés combinés après hydrolyse, constituent des substrats rapidement assimilables. Le rendement de croissance des acides aminés libres est le plus élevé (environ 0,8) dépassant ceux des alcohols, des alkanes, des sucres et des acides organiques (CONNOLLY *et al.* ,1992). Leur présence à la sortie d'usine, surtout sous la forme d'acides aminés libres, représente donc un potentiel de recroissance élevé même en faibles concentrations, ce qui peut affecter l' évolution de la qualité de l'eau dans le réseau.

En conséquence, cette étude présente donc le suivi de la teneur en acides aminés totaux dans deux filières de traitements d'eau potable canadienne à Ville Laval (Québec, CANADA) et l'enlèvement de cette fraction du carbone organique biodégradable en fonction des variations saisonnières.

Notre deuxième objectif a consisté à suivre l'évolution de cette fraction de la matière organique biodégradable dans le réseau de distribution tout en essayant de la corréler à l'évolution du COB en tenant compte de celle des densités bactériennes libres et fixées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Description des deux filières de traitement et des réseaux de distribution étudiés

La figure 1 illustre les différentes étapes de traitement des deux usines étudiées: Chomedey et Sainte-Rose (Ville de Laval, Québec, CANADA).

L'usine Chomedey puise son eau brute dans la rivère des Prairies. La teneur en carbone organique dissous des eaux de cette rivière varie saisonnièrement de 5 à 8 mg C/l de COT. Cette filière de traitement présente les étapes suivantes: coagulation (alun et silice activée) et décantation dynamique, filtration bi-couche sur sable et anthracite suivie d'une ozonation et d'une post-désinfection par le chlore ou le bioxyde de chlore. Le débit nominal de cette usine est de 180 000 m^3 /d .

L'usine de Sainte-Rose puise son eau brute dans la rivière des Mille-Îles. Les eaux de cette rivière ont une teneur en carbone organique qui varie avec les saisons (5 - 8 mg C/l de COT). La caractéristique majeure de cette usine est la présence d'un traitement biologique combinant une ozonation et une filtration sur charbon actif biologique. La désinfection finale est effectuée par ajout du bioxyde de chlore. Cette usine, d'un débit nominal de 110 000 m^3/d, traite un débit moyen annuel de 65 000 m^3/d

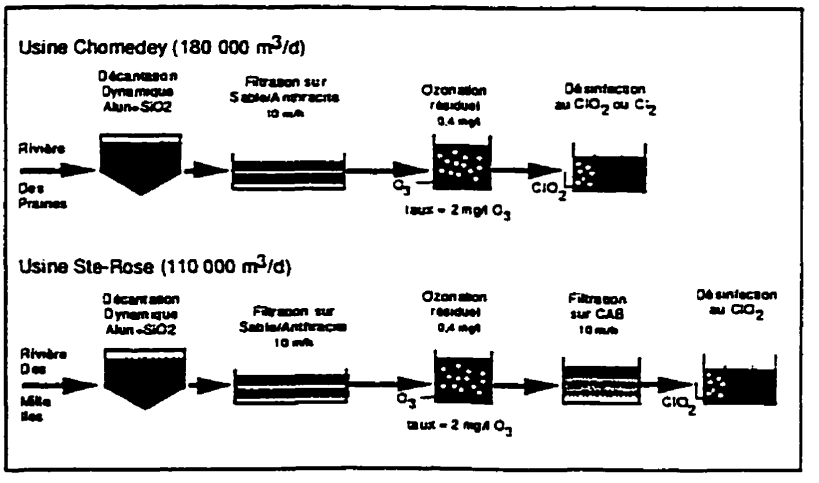


Figure 1: Description des deux usines de production d'eau potable à la ville de Laval (Québec).

Les réseaux de ces deux usines, quoique reliés en leurs extrémités, possèdent des zones d'influence bien déterminées. Les temps de séjour de l'eau aux différents points d'échantillonnage sont estimés à l'aide du logiciel PICCOLO en simulation statique à partir d'une base de données ORACLE avec 27000

noeuds. Les échantillons sont prélevés directement sur des conduites secondaires de fonte grise de 15 cm de diamètre, offrant ainsi un rapport "surface de conduite / volume d'eau" (A/V) élevé. Les échantillons sont prélevés avec un tube de Pitot modifié permettant d'échantillonner sur toute la section de la conduite. L'eau circule à travers un tube de teflon préalablement désinfecté et rincé abondamment par l'eau du réseau. Les points d'échantillonnage sont répartis sur le réseau selon le temps de séjour (0,5 à 15 heures). Des prélèvement additionnels sont effectués dans les culs-de-sac au temps de séjour indéfinis mais supérieurs à 14 heures (Ste-Rose) et 25 heures (Chomedey). Le choix de ne pas échantillonner chez l'usager est justifié par la démonstration récente de l'influence de l'entrée de service sur la qualité de l'eau prélevée (PRÉVOST *et al.*, 1994).

Procédures générales d'échantillonnage et de laboratoire

Toute la verrerie utilisée lors des expériences est préalablement lavée à l'acide chlorhydrique à 6 N, puis rincée à l'eau milli Q produite par une unité Millipore. De plus, toute la verrerie nécessaire pour l'étape d'hydrolyse des acides aminés et les bouteilles en verre teinté utilisées pour les prélèvements des échantillons sont passées au four à 500 °C pendant au moins 4 heures afin d'enlever toute trace de matière organique. Des gants sans poudre sont utilisés pour éviter toute contamination.

Les échantillons prélevés sont rapportés au laboratoire dans les plus brefs délais dans une glacière à 4 °C. Les analyses des acides aminés, de densité de biofilm et de CODB sont réalisées la journée même de l'échantillonnage. Les analyses (acides aminés, COD, COB, CODB) sont réalisées au moins en triplicats d'échantillons.

Analyse des acides aminés

L'analyse des acides aminés libres est effectuée par chromatographie liquide haute performance (CLHP) suivant la technique de dérivation pré-colonne à l'orthophtadialdéhyde (OPA). Le principe de cette méthode est la réaction de l'OPA avec les acides aminés primaires en présence de mercapto-2 éthanol par laquelle sont formés des dérivés isoindoliques chromatographiables sur une phase stationnaire apolaire et détectables par fluorimétrie.

La chaîne HPLC utilisée comprend un injecteur automatique WATERS 717 WISP, programmé en mode auto-addition permettant la dérivation dans la boucle d'injection, et une pompe (système contrôleur WATERS 600 E) à gradient d'élution. La détection est assurée par un spectrofluoromètre (M-470 WATERS) ajusté à une longueur d'onde d'excitation de 345 nm et une longueur d'onde d'émission de 455 nm. La séparation des acides aminés est réalisée sur une colonne C18 Delta-Pack WATERS. L'acquisition des données est traitée par un logiciel Millenium (WATERS).

Conditions d'élution
Le choix de la colonne et des conditions d'élution a été réalisé par BERNE *et al.* (1994) dans le cadre de ses travaux de thèse de doctorat. Quelques modifications sont apportées aux conditions d'élution.

Le gradient d'élution utilisé est présenté dans le tableau 1. L'éluant A correspond à une solution tampon acétate (0,5 M) - phosphate (0,5 M) à pH = 7,4 réalisée à partir des sels d'acétate de sodium et dihydrogénophosphate de sodium. L'ensemble est filtré sur membrane 0,22 µm et ensuite placé sous courant d'hélium purifié à 100 ml min^{-1} pendant une heure, puis réglé à 70 ml min^{-1} durant le temps d'analyse. L'éluant B, une solution à 75 % méthanol et 25 % eau milli Q, est soumis à une filtration sur membrane de 0,45 µm, et subit la même procédure de dégazage que l'éluant A.

Le maintien de la température de la colonne à 37 °C est nécessaire afin d'obtenir une meilleure résolution des pics des différents acides aminés analysés, particulièrement une résolution suffisante pour la méthionine, la valine et la phénylalanine. Le tableau 1 présente le gradient d'élution utilisé lors de nos analyses. Un profil chromatographique de 15 acides aminés libres séparés dans nos conditions d'analyse est présenté dans la figure 2.

Analyse chromatographique et quantification
Les profils chromatographiques peuvent varier légèrement suivant l'utilisation de la colonne. En conséquence, chaque série d'analyse d'acides aminés est accompagnée de la préparation d'une gamme étalon. Les solutions étalons d'acides aminés sont préparées par dilution d'une solution étalon de 15 acides aminés libres (Sigma et Fluka, de haute pureté) dans de l'eau milli Q et analysées dans les mêmes conditions que les échantillons.

L'analyse des acides aminés totaux (acides aminés libres et acides aminés combinés tels les peptides et les protéines) nécessite une étape d'hydrolyse. La libération des acides aminés combinés en vue de leur dosage constitue la phase la plus délicate de leur détermination. Certains acides aminés sont transformés ou même détruits selon les conditions d'hydrolyse utilisées. Le tryptophane est particulièrement affecté par l'hydrolyse (LYTLE *et* PERDUE, 1981).

Tableau 1: Gradient d'élution utilisé pour l'analyse des acides aminés

Temps (minutes)	Débit (ml/min)	% Éluant A	% Éluant B
0.0	1	75	25
2.0	1	75	25
2.5	1	75	25
8.0	1	65	35
15.0	1	65	35
27.0	1	25	75
33.0	1	25	75
39.0	1	0	100
49.0	1	0	100
50.0	1	50	50
54.0	1	75	25
60.0	1	75	25

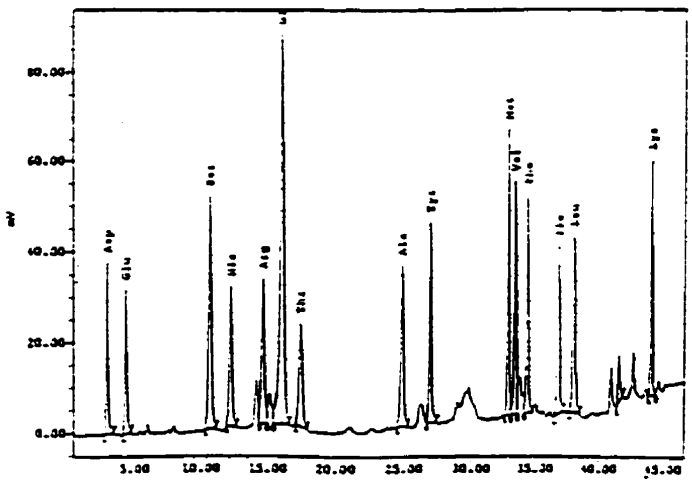


Figure 2: Chromatogramme obtenu pour une solution étalon de 15 acides aminés libres à 0.2 µM de chaque acide aminé (1 picomole injectée)

Dans notre étude, l'hydrolyse est réalisée à l'aide d'une station Picotag (WATERS). Les échantillons de 100 µl, sont séchés sous vide puis hydrolysés par l'acide chlorhydrique 6 N en présence de cristal de phénol. L'hydrolyse est effectuée à 120 °C pendant 3 heures, conditions permettant une hydrolyse optimale (BERNE *et al.*, 1994). L'excès d'acide est alors évaporé sous vide. L'échantillon hydrolysé est ensuite repris avec 100 µl d'eau milli Q. Les acides aminés libres ainsi obtenus sont soumis à la même procédure d'analyse que celle détaillée précédemment.

L'étude du rendement d'hydrolyse en milieu acide a été réalisée par HUREIKI (1993) pour les mêmes conditions d'hydrolyse et à différentes concentrations pour deux peptides, arg-lys-glu-val-tyr et ala-leu-ala-leu. L'analyse des acides aminés libérés après hydrolyse acide a montré qu'aucun des six acides aminés pris en compte n'est significativement affecté par le traitement de l'échantillon.

Mesures du carbone organique dissous (COD) et du carbone organique dissous biodégradable (CODB)

Les analyses du COD et du CODB sont effectuées sur un appareil Dorhman DC 180 par oxydation UV-persulfate après filtration sur une membrane de 0,45 µm. La méthode suivie pour l'analyse du CODB est celle décrite par SERVAIS *et al.*, (1987, 1989). L'inoculum utilisé est de l'eau brute filtrée sur membrane de porosité de 3,0 µm. Pour s'assurer que le carbone soit l'élément limitant la croissance, une solution de sels minéraux est ajoutée aux incubations.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Effets des différents procédés de traitement sur la teneur en acides aminés totaux

L'analyse des acides aminés totaux après hydrolyse a été réalisée après chaque étape de traitement afin de montrer l'influence de ces différents procédés sur leur teneur. Les résultats de la teneur en acides aminés totaux, exprimés en mg C/l, déterminés à différentes étapes de traitement de la filière de traitement de Chomedey sont présentés à la figure 3. Le suivi des acides aminés totaux a d'abord été réalisé sur une eau chaude à 16 °C (21.09.93). Un deuxième échantillonnage a eu lieu en eaux froides (< 2°C) le 31.01.94.

De même, les résultats des mesures effectuées sur la filière de Ste-Rose sont présentés à la Figure 4. Deux échantillonnages ont été effectués en eaux chaudes: un premier le 25.08.93 (22°C) et un deuxième le 28.09.93 (16°C). Pour ce deuxième échantillonnage, l'analyse des acides aminés totaux n'a alors été réalisée que pour un effluent de la filtration bi-couche sable et anthracite, un effluent de l'ozonation et un effluent de la filtration CAB. Deux échantillonnages additionnels ont été complétés en eaux froides les 25.01.94 et 13.03.94 (< 2°C).

Les résultats obtenus pour la teneur en acides aminés totaux après les différentes étapes de traitement, indiquent la présence des acides aminés totaux tout au long des deux usines de traitement Sainte-Rose et Chomedey de Ville de Laval. La teneur en acides aminés totaux des eaux prélevées aux différentes étapes de traitement varie de 0,057 à 0,251 mg C/l et représente entre 1,8 et 4,3 % du carbone organique dissous. La proportion du CODB que représentent les acides aminés totaux est beaucoup plus élevée (13 à 81%). Cette proportion élevée est partiellement attribuable à la méthode de mesure de CODB utilisée pour nos mesures: la méthode en incubation batch de Servais-Billen qui sous-estime la concentration en CODB par un facteur variant entre 1,2 et 2 (MATHIEU, 1992; VOLK, 1994).

Eau brute

Dans l'eau brute, on note que la concentration en acides aminés totaux est relativement stable (117 à 141 µg C/l), à l'exception de l'échantillonnage d'hiver du 25.01.94 à Sainte-Rose, avec une valeur élevée de 251 µg C/l. Ces concentrations dans les eaux brutes sont caractéristiques de celles d'eaux de surface eutrophes. En effet, pour des eaux de rivières, les concentrations en acides aminés totaux dissous varient de 50 à 1 000 µg C/l. Ces concentrations sont du même ordre que celles mesurées par

BERNE *et al.* (1994) qui rapporte des concentrations dans les eaux brutes de l'usine de Méry sur-Oise s'échelonnant entre 100 et 150 µg C/L LYTLE *et* PERDUE (1981) ont aussi mesuré des concentrations élevées d'acides aminés plus importantes durant les périodes d'hiver et de printemps dans des lacs.

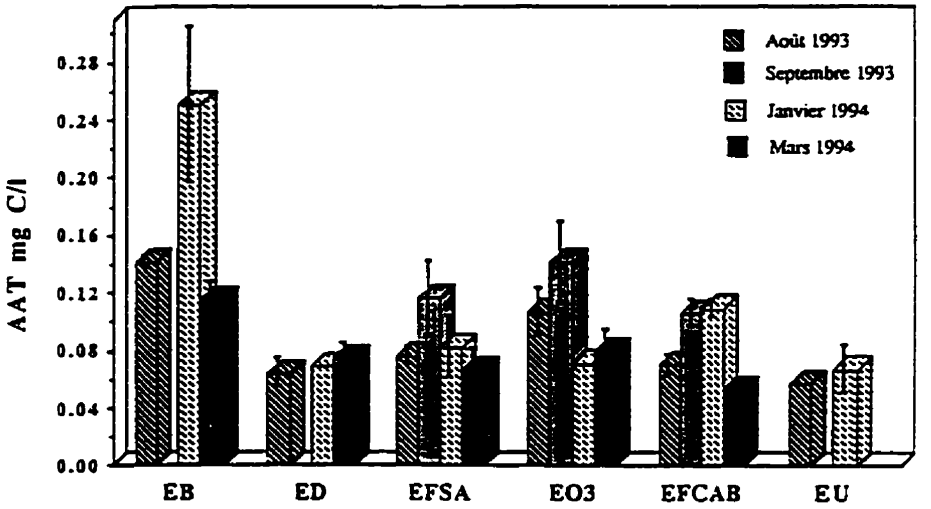


Figure 3: Variations saisonnières de la teneur en acides aminés totaux dans la filière de traitement à l'usine de Ste-Rose (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EFCAB: eau filtrée CAB, EU : effluent usine)

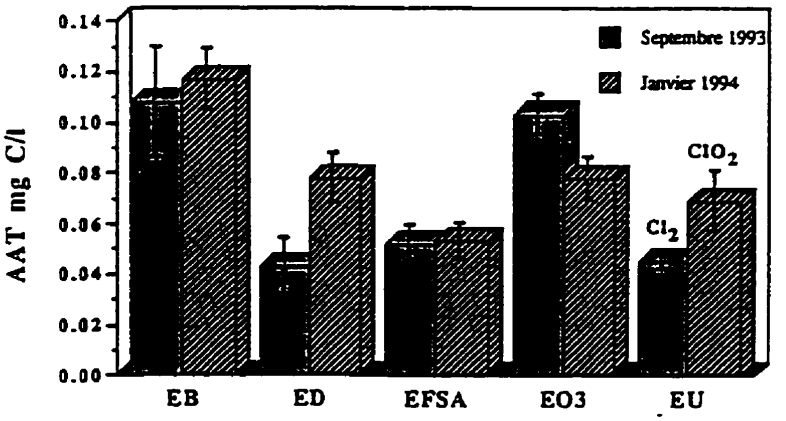


Figure 4: Variations saisonnières de la teneur en acides aminés totaux dans la filière de traitement à l'usine de Chomedey (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EU : effluent usine)

Eau décantée

Des diminutions importantes (34-72%) en acides aminés totaux ont été observées après coagulation-floculation avec ajout d'alun et de silice activée et à la décantation dynamique. Cette tendance a été signalée par LE CLOIREC *et al.* (1983) concernant la teneur en acides aminés libres. D'après ces mêmes auteurs, cette étape pourrait surtout favoriser l'élimination des acides aminés combinés. L'augmentation de la charge ionique et l'abaissement du pH à une valeur d'environ 6,5 suite à l'ajout du $Al_2(SO_4)_3$, favorise la neutralisation des protéines et leur précipitation ou leur adsorption dans les flocs. D'ailleurs plusieurs techniques de précipitation des protéines font appel à une combinaison de méthodes dont l'ajout de sels ou de coagulants, de polymères, et le recours à la floculation (BAILEY *et* OLLIS, 1986).

Eau filtrée sur sable et anthracite

La filtration bi-couche en premier étage a un effet variable sur la concentration en acides aminés totaux. Généralement, on note une augmentation, de l'ordre de 20 %, qui pourrait résulter de la décomposition et de l'utilisation des matières algales accumuléess par ces filtres. Les algues peuvent relarguer des concentrations mesurables de substrats rapidement biodégradables, comme des acides aminés et des matières protéiniques (CONNOLLY *et al.*, 1992). Ce relarguage est attribuable à l'excrétion extracellulaire, à la lyse ou encore aux pertes lors du broutage par les protozoaires.

Eau ozonée

L'ozonation augmente, à l'exception d'un seul cas à l'usine Ste-Rose le 25.01.94, la concentration mesurable en acides aminés. Cette augmentaion varie de 20 à 100%. Comme certains acides aminés libres ou combinés dans des structures peptidiques sont détruits par l'ozonation, cette observation peut paraître surprenante (HUREIKI *et al.*, 1994).

L'augmentation de la teneur en acides aminés totaux est observée pour les deux périodes estivale et hivernale. Cette augmentation pourrait être liée à l'effet de l'ozonation sur certaines matières organiques présentant des structures assez complexes ou des matières algales. L'ozonation pourrait entraîner la destruction de certaines de ces molécules, rendant plus accessibles les acides aminés incorporés dans leur structure à l'hydrolyse et favorisant leur détection à l'analyse.

Pour confirmer cette hypothèse une revérification des conditions d'hydrolyse a été réalisée afin de préciser si un artefact de la méthode d'hydrolyse est à l'origine de l'augmentation observée des acides aminés totaux. Il est possible que l'hydrolyse, dans les conditions utilisées, ne permette pas une récupération complète des acides aminés présents, et détruise ou sous-estime une fraction de ces acides aminés; les conditions n'étant pas assez poussées pour libérer tous les acides aminés liés dans des structures protéiniques ou d'autres structures plus complexes. Des essais ont été réalisés pour évaluer l'impact de l'étape d'hydrolyse sur différents acides aminés libres, dans la gamme de concentrations retrouvées dans les eaux de surface étudiées. Des solutions étalons de 15 acides aminés libres ont été analysées avant et après hydrolyse acide.

D'autres expériences ont été réalisées sur des eaux naturelles pour ces mêmes différentes conditions d'hydrolyse. L'eau étudiée a été prélevée à l'effluent des filtres sable-anthracite à l'usine de Ste-Rose, c'est à dire au point où nous soupçonnions une sous-évaluation (28/10/93 à 9 °C). Les acides aminés d'une eau de surface sont présents sous forme de molécules complexes qui sont oxydées à l'étape d'ozonation. Cette oxydation facilite la libération des acides aminés qui les composent et favorise leur détection après hydrolyse. Les trois conditions d'hydrolyse séléctionnées pour cette étude sont les suivantes:

- 3 heures à 120 °C, conditions optimales determinés par BERNE *et al.* (1994) sur des eaux des filières de traitement francaises,
- 50 minutes à 150 °C, conditions utilisées dans la bibliographie,
- 22 heures à 115 °C, conditions conseillées et généralement utilisées pour l'hydrolyse des protéines.

Les résultats obtenus avec les différentes conditions d'hydrolyse ainsi que l'effet de ces différentes conditions sur l'ensemble des 15 acides aminés libres sont décrits à la figure 5. Ces résultats montrent bien que les conditions optimales d'hydrolyse sont de 3 heures à 120 °C pour des solutions étalons préparées dans de l'eau milliQ. Cet effet des conditions d'hydrolyse est vérifié pour un effluent de filtration bi-couche sur sable et anthracite à l'usine de Ste-Rose, comme le montre la figure 6. En outre, l'hydrolyse dans les deux autres conditions semble affecter la structure de certains acides aminés et plus particulièrement la méthionine.

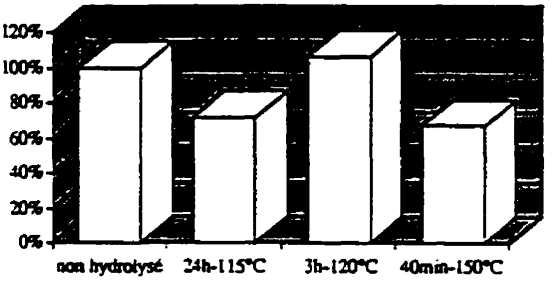


Figure 5: Pourcentage de récupération de l'ensemble des 15 acides aminés libres à la suite de différentes conditions d'hydrolyse

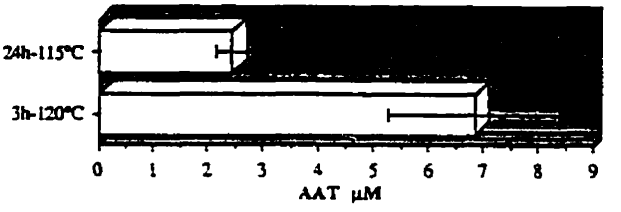


Figure 6: Effet de deux conditions d'hydrolyse sur la teneur en acides aminés totaux de l'effluent sable/anthracite à l'usine de Ste-Rose (température de l'eau à 9 °C, 28/10/93)

Eau filtrée sur charbon actif biologique (CAB)

Dans la majorité des cas, les résultats ont montré une diminution de la teneur en acides aminés totaux au niveau de la filtration sur charbon actif biologique de l'usine de production d'eau potable de Ste-Rose. Cette diminution varie de 24 à 34 %. En eaux froides (1°C, 25.01.94), on note une augmentation de 54% de la teneur en acides aminés totaux. La diminution en eaux chaudes et tièdes peut être attribuée à un phénomème d'assimilation biologique des acides aminés par la biomasse fixée. En effet, le milieu filtrant dans les filtres CAB étudiés avait plus de 5 ans de service. Les acides aminés constituent plus de 45% du CODB dans l'effluent des filtres CAB, ce qui suggère qu'avec un plus long temps de contact, une hydrolyse bactérienne plus complète et une plus grande assimilation des acides aminés totaux pourraient être obtenues.

L'étape limitant le taux d'assimilation des acides aminés est l'hydrolyse des peptides et protéines en acides aminés directement utilisables par la biomasse bactérienne (BILLEN *et* SERVAIS, 1988). On pourrait s'attendre à ce que le taux d'hydrolyse des protéines soit plus lent en eaux très froides qu'en eaux chaudes, ce qui se traduirait par une diminution de l'enlèvement total des acides aminés totaux dans les filtres CAB, puisque le temps de contact y est constant. Or, en eaux très froides, nous avons observé une augmentation de la teneur en acides aminés. La source de ce relarguage en eaux froides demeure inexpliquée.

Eau désinfectée par le bioxyde de chlore ou par le chlore

Comme le montrent nos résultats, l'étape de post-oxydation par le bioxyde de chlore diminue la teneur en acides aminés totaux (12 à 39%). Les résultats réalisés concernant la demande en bioxyde de chlore de onze acides aminés et d'un peptide (HUREIKI *et* GAUTHIER, 1994) ont pourtant confirmé la très faible réactivité des acides aminés avec cet oxydant. Les demandes en bioxyde de chlore obtenues dans des conditions similaires à celles utilisées à l'usine de traitement (pH 8, tampon phosphate) sont négligeables à l'exception des acides aminés présentant un cycle aromatique activé (tyrosine) ou un groupement soufré (méthionine).

La post-désinfection à l'usine de Chomedey durant la période estivale s'effectue par ajout du chlore. Les résultats de la teneur en acides aminés totaux analysés à la sortie de l'usine le 29.09.93 montrent un abattement de plus de 60 %. Ces résultats s'expliquent par la grande réactivité de la plupart des acides aminés avec le chlore (HUREIKI *et al.*, 1993).

L'abattement d'acides aminés à l'étape de post-désinfection par le bioxyde de chlore de des usines Ste-Rose (19-39%) et Chomedey (12%) est surprenante étant donné leur faible réactivité avec cet oxydant. Ceci pourrait s'expliquer par les éléments suivants: (1) dans les usines étudiées, le bioxyde de chlore est produit à partir du chlorite de sodium en présence d'un excès de chlore (de moins de 10%), il y a donc du chlore dans l'eau désinfectée et la formation de faibles concentrations de AOX dans les eaux désinfectées au bioxyde de chlore en usine a déjà été rapportée; (2) avant d'atteindre la post-désinfection, l'eau ozonée séjourne dans un bassin de relèvement (usine Ste-Rose) ou dans le premier bassin du bassin de désinfection (usine Chomedey). Le temps de séjour dans le bassin de relèvement peut atteindre 30 minutes pendant lesquelles subsiste un résiduel d'ozone mesurable en hiver. La destruction des acides aminés libres par l'ozonation pourrait donc se poursuivre dans ces bassins. Par ailleurs, la formation des aldéhydes ne se poursuit pas dans ce bassin en eaux froides (GLAZE *et* WEINBERG, 1993).

2. Nature des acides aminés analysés: Évolution dans les filières de traitement

Les acides aminés dissous et particulaires présentent une place non négligeable dans les phénomeènes biologiques de l'écosytème. Ils constituent une source potentielle d'azote importante dans le processus du développement des phytoplanctons. Assimilés, relargués par les planctons et les bactéries, les acides aminés sont susceptibles de présenter des variations de leur teneur et de leur nature en fonction du milieu et des saisons. La bibliographie souligne la prédominance dans les eaux des rivières de la glycine, de l'alanine et de l'acide aspartique (THURMAN, 1985).

Les rivières des Mille-Iles et des Prairies dérivent d'une source commune: la rivière Outaouais qui se jette dans le lac des deux-Montagnes. Les acides aminés majoritaires retrouvés dans les deux rivières étudiées sont les suivants : la glycine, l'alanine, la leucine, la sérine (acides aminés neutres), l'acide glutamique, l'acide aspartique (acides aminés acides) et la lysine (acide aminé basique).

La figure 7 présente les teneurs des eaux brutes en acides aminés totaux majoritaires, exprimés en mg C/l, en fonction des saisons. En général, la glycine, l'acide aspartique, l'acide glutamique, la sérine, l'alanine, la leucine et la lysine, sont retrouvés dans les deux eaux brutes et pour les deux périodes estivale et hivernale.

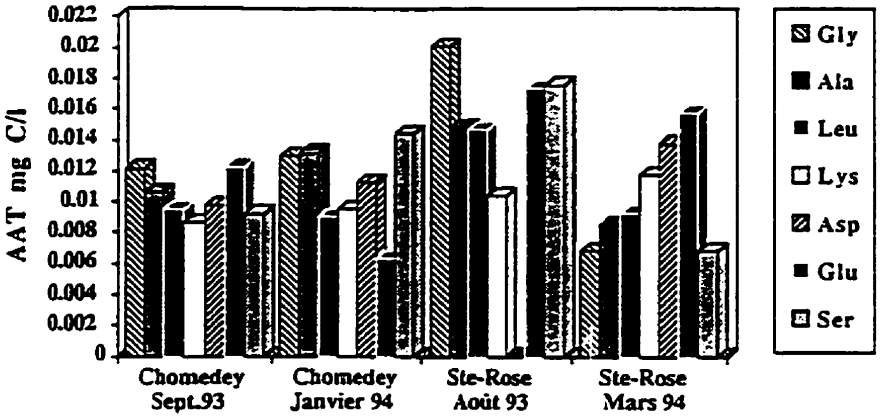


Figure 7: Acides aminés totaux majoritaires dans les eaux brutes: effet des variations saisonnières

La discussion des résultats est orientée vers l'évolution des teneurs en acides aminés et de leur nature. L'interprétation des teneurs en chaque acide aminé, exprimés en mg C/l, reste assez délicate en raison des faibles concentrations présentes. La limite de détection des différents acides aminés analysés a été calculée à partir d'un étalon de 15 acides aminés libres préparé dans de l'eau milli Q. Chaque mesure a été répétée 7 fois. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 2.

Tableau 2: Limites de détection (LD) calculées pour 15 acides aminés libres

Acides aminés libres	LD (uM)	LD (mg C/l)	Nature des acides aminés
Alanine	0.026	0.0010	
Valine	0.023	0.0014	
Glycine	0.029	0.0007	
Isoleucine	0.019	0.0014	acides aminés
Leucine	0.023	0.0017	neutres
Sérine	0.026	0.0009	
Thréonine	0.018	0.0009	
Méthionine	0.021	0.0012	
Acide aspartique	0.036	0.0017	acides aminés
Acide glutamique	0.034	0.0020	acides
Lysine	0.018	0.0013	
Histidine	0.022	0.0016	acides aminés
Arginine	0.018	0.0013	basiques
Phénylalanine	0.049	0.0053	acides aminés
Tyrosine	0.024	0.0025	aromatiques

Les figures suivantes illustrent l'évolution des teneurs totales en acides aminés majoritaires analysés après les différentes étapes de traitement dans les deux usines étudiées Ste-Rose (figures 8a et 8b) et Chomedey (figures 9a et 9b) durant les périodes estivale et hivernale. En général, on observe que l'évolution des concentrations de chaque acide aminé selon les étapes de traitement, suit les tendances observées pour les acides aminés totaux (figures 3 et 4).

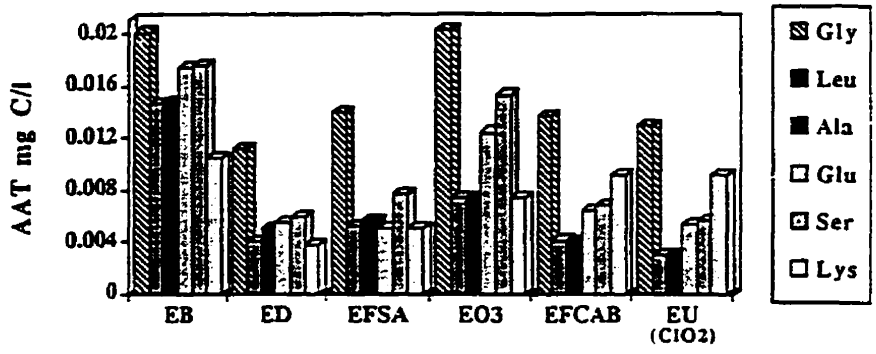


Figure 8a: Évolution des acides aminés totaux prédominants dans la filière de traitement de l'usine de Ste-Rose durant la période d'été du 25/08/93(EB : eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EFCAB: eau filtrée CAB, EU: effluent usine)

Ces résultats nous permettent de constater que la plupart des acides aminés majoritaires sont enlevés en grande partie à l'étape de la décantation. Une légère augmentation est toutefois notée pour la glycine et la sérine dans la période estivale, alors que durant la période hivernale la filtration sur sable conduit à une légère diminution de la concentration de ces acides aminés. L'ozonation augmente la teneur individuelle de ces différents acides aminés. Néanmoins, cette variation est plus notable dans le cas de la glycine, l'acide glutamique et de la sérine pour les deux saisons étudiées. Ces mêmes acides aminés libérés après ozonation sont enlevés en partie sur les filtres biologiques. L'ajout du chlore en fin du traitement (usine de Chomedey, période estivale) conduit à une réduction importante de la concentration des différents acides aminés majoritaires analysés.

En contrepartie, la désinfection réalisée par l'ajout du bioxyde de chlore affecte d'une manière moins marquée la teneur en ces acides aminés. Ces constatations sont confirmés dans la littérature par la grande réactivité des acides aminés libres et combinés vis-à-vis du chlore (HUREIKI *et al.*, 1994) et leur très faible réactivité, à l'exception de la tyrosine et de la méthionine, vis-à-vis du bioxyde de chlore (BEN AMOR et al., 1984 ; HUREIKI *et* GAUTHIER, 1994).

L'absence d'un enlèvement sélectif de certains acides aminés par certaines étapes de traitement apparaît à première vue surprenante. En effet, les différences de réactivité avec l'ozone et le chlore des acides aminés présents sont marquées, et les charges de certains acides aminés au pH d'usine devraient en favoriser l'enlèvement durant l'étape de coagulation-décantation. Cette absence de spéciation est probablement attribuable au fait que la plupart des acides aminés présents sont inclus dans des structures protéiniques complexes ou liés à des substances humiques ou fulviques. L'effet des différents traitements s'exerce surtout sur ces macromolécules et reflète peu la nature ou la réactivité de chacun des acides aminés qui en font partie.

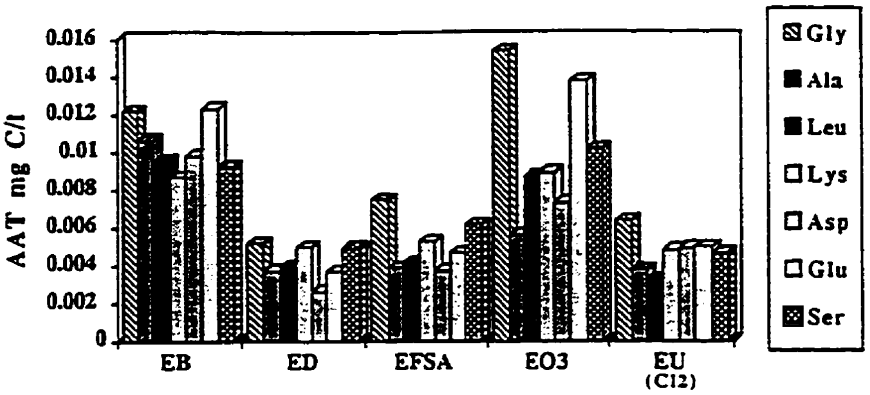


Figure 8b: Évolution des acides aminés totaux prédominants dans la filière de traitement de l'usine de Chomedey durant la période d'été du 21/09/93 (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA:eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EU: effluent usine)

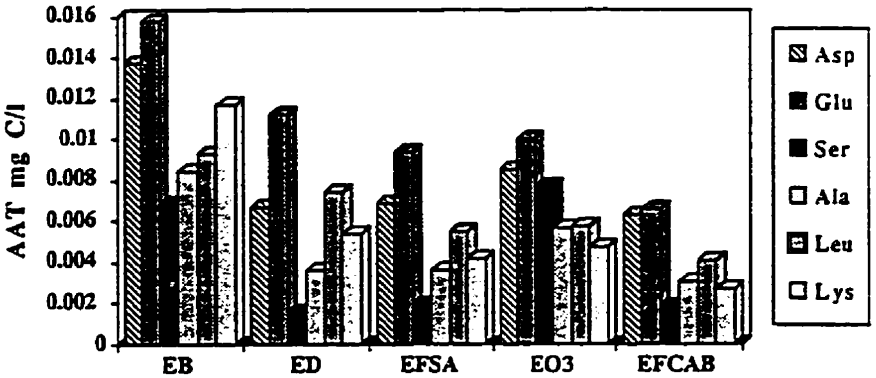


Figure 9a: Évolution des acides aminés totaux prédominants dans la filière de traitement de l'usine de Ste-Rose durant la période d'hiver du 13/03/94 *(EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EFCAB: eau filtrée CAB.)*

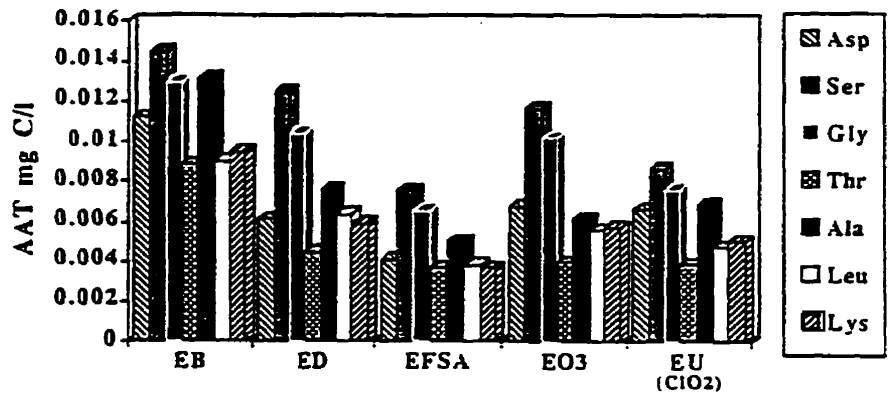


Figure 9b: Évolution des acides aminés totaux prédominants dans la filière de traitement de l'usine de Chomedey durant la période d'hiver du 31/01/94 (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EU: effluent usine)

RESEAUX DE DISTRIBUTION

Les acides aminés libres et combinés constituent une source de substrat carboné pour les biomasses libres et fixées présentes dans les réseaux de distribution. Pour vérifier si les concentrations d'acides aminés présents en fin de filière de traitement représentent une source importante de substrat, nous avons mesuré leur décroissance en fonction du temps de séjour.

La densité bactérienne libre, évaluée par les mesures de bactéries aérobies hétérotrophes et les dénombrements directs viables, et son activité augmentent en fonction du temps de séjour de l'eau dans les réseaux étudiés (PRÉVOST *et al.*, 1994). Un réseau alimenté par une filière biologique contient une biomasse bactérienne de densité et d'activité plus faibles que pour celles d'une biomasse retrouvée dans un réseau alimenté par une filière sans traitement biologique (PRÉVOST *et al.*, 1994). La densité de la biomasse fixée dans les deux réseaux étudiés a été mesurée pendant la période d'échantillonnage d'hiver à l'aide de la méthode d'activité exoprotéolytique (AEP) décrite dans SERVAIS *et al.*, (1994). Les résultats, portés à la figure 10 montrent bien l'augmentation de la biomasse fixée en fonction du temps de séjour.

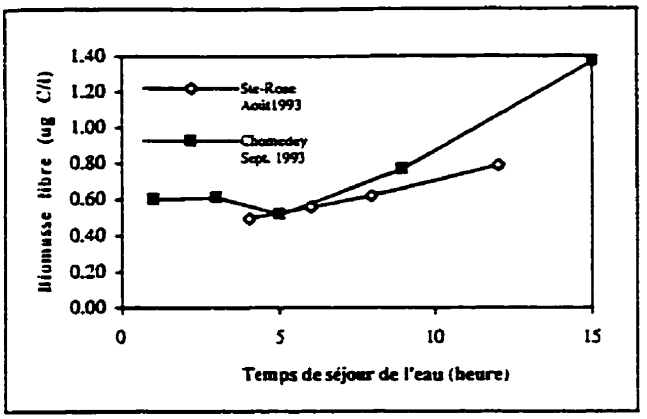


Figure 10: Évolution de la biomasse libre en fonction du temps de séjour - Réseaux des usines Chomedey et Ste-Rose. Méthode de l'AEP, conduites de 15 cm de diamètre

Le suivi des acides aminés totaux dans les petites conduites de réseau de Ste-Rose a été réalisé en eaux chaudes. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 11a. La faible teneur en acides aminés totaux à la sortie de cette usine reste stable à travers le réseau, et la teneur en CODB diminue très légèrement en fonction du temps de séjour.

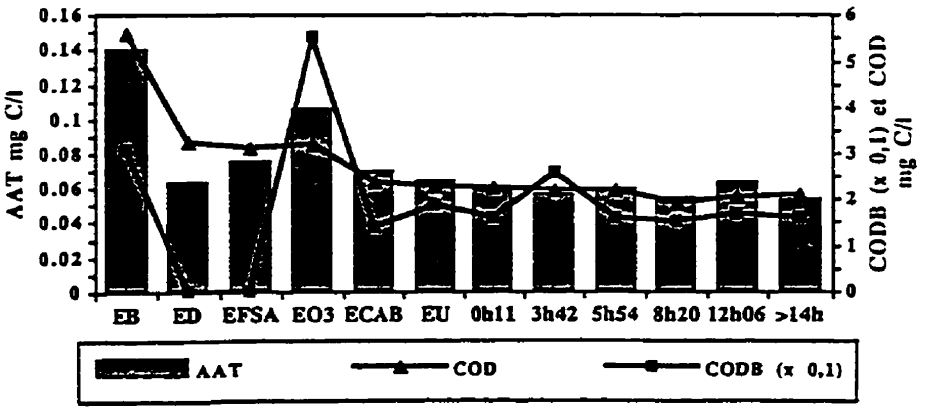


Figure 11a: Évolution des teneurs en acides aminés totaux et en CODB exprimées en mg C/l dans la filière et le réseau de Ste-Rose: Suivi en fonction du temps de séjour (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EFCAB: eau filtrée CAB, EU: effluent usine; temps de séjour dans le réseau de distribution)

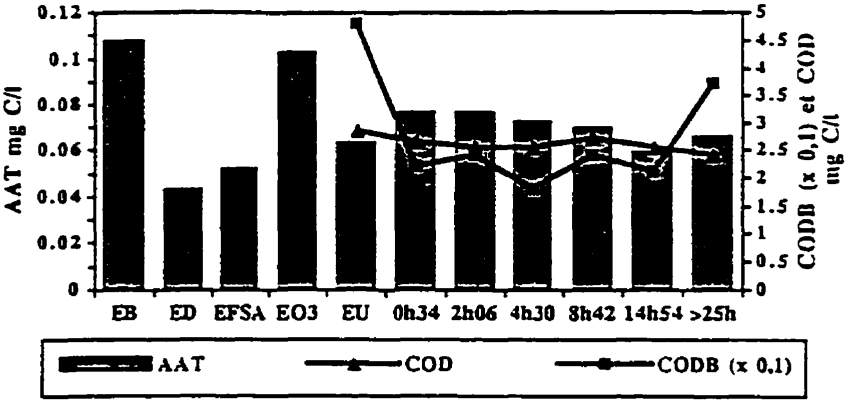


Figure 11b: Évolution des teneurs en acides aminés totaux et en CODB, exprimées en mg C/l, dans le réseau de l'usine de Chomedey en fonction du temps de séjour (EB: eau brute, ED: eau décantée, EFSA: eau filtrée sable/anthracite, EO3: eau ozonée, EU: effluent usine; temps de séjour dans le réseau de distribution)

Les acides aminés totaux ont été également suivis le long du réseau de distribution de Chomedey (figure 11b). Cette analyse a été effectuée pour une eau à 16 °C (21.09.93) sur cinq points d'échantillonnage situés sur des petites conduites du réseau. On note diminution plus marquée des acides aminés totaux en fonction du temps de séjour (jusqu'à 15 heures) que dans le cas de l'usine Ste-Rose. Cette diminution s'effectue surtout après la dissipation du chlore résiduel libre qui était de < 0,1 $mgCl_2$ au temps de séjour de 4h30.

Une faible augmentation de la teneur en acides aminés totaux entre l'effluent de l'usine et la conduite située à un court temps de séjour est observée. L'échantillonnage du réseau ayant été effectué le lendemain de celui de l'usine, cette diférence reflète probablement une variation de la qualité de l'eau.

Les figures précédentes montrent que la biomasse fixée dans les réseaux s'accroit en fonction du temps de séjour alors que la concentration en acides aminés totaux reste relativement stable. Ceci suggère que les acides aminés, malgré leur fort potentiel de recroissance, ne jouent pas un rôle important dans l'accroissement de la densité du biofilm des réseaux étudiés.

Corrélation entre la teneur en acides aminés totaux et le CODB

La tentative de corréler le CODB et la concentration en acides aminés totaux avait pour objectif d'évaluer le potentiel de la mesure des acides aminés totaux comme indicateur (1) de la teneur en CODB; (2) du potentiel de formation de sous-produits d'oxydation que représente le CODB. En effet, les acides aminés constituent un des groupes de composés du pool de matières organiques biodégradables, et ils comptent parmis les principaux précurseurs de sous-produits organochlorés.

Le suivi du CODB a été effectué en parallèle aux analyses des teneurs en acides aminés totaux dans la filière de traitement et le réseau de distribution à l'usine de Ste-Rose (25.08.93) et uniquement sur le réseau à l'usine de Chomedey (21.09.93). Les figures 11a et 11b illustrent les résultats obtenus pour ces deux paramètres. Une tendance similaire est observée le long des différentes étapes de traitement sur la filière de Ste-Rose. La tendance à l'augmentation après ozonation des acides aminés mesurés et du CODB est similaire, mais l'ordre de grandeur de l'augmentation exprimée en carbone est différent.

L'augmentation des acides aminés est de 0,030 mgC/L, alors que le CODB augmente de 0,55 mgC/L. De même la diminution du CODB dans les filtres CAB est de 0,40 mgC/L alors que l'enlèvement des acides aminés totaux es de 0,036 mgC/L. La faible variation des acides aminés et du CODB dans les réseaux rend l'obtention d'une corrélation presqu'impossible.

Il est peu probable qu'une corrélation valable puisse être établie entre la concentration de CODB et la concentration en acides aminés à travers une usine ou même à travers un même procédé (eg: filtre CAB) pour les raisons suivantes:

(1) la proportion du CODB que représentent les acides aminés varie selon la source d'eau utilisée. Pour une même eau brute, elle varie en fonction des saisons. L'effet du traitement sur les différents groupes de composés qui forment le pool des matières organiques biodégradables, soit les sucres, les alcools, les acides organiques et les acides aminés libres et combinés, et dans une certaine mesure, les acides fulviques et humiques, n'est pas le même. Il est très probable que la proportion du CODB associée à chacune de ces classes de composés varie suite à l'effet des différents procédés de traitement appliqués.

(2) les acides aminés représentent une partie importante du CODB dans certains types d'eau (eaux brutes et eaux filtrées CAB des eaux étudiées) mais ne représentent qu'une petite partie du CODB à d'autres étapes du traitement.

Pour ces raisons, nous croyons que les acides aminés en fin de filière ne représentent pas une source majeure de substrat pour la croissance du biofilm dans les réseaux de distribution. Enlevés efficacement par la coagulation-décantation et par la filtration biologique et oxydés par le chlore, ils ne représentent qu'une faible partie du CODB entrant dans le réseau de distribution. D'autres classes de substrat, comme les sucres, représentent peut-être une source plus abondante de substrat carboné.

CONCLUSIONS

Le premier objectif de cette étude était d'évaluer l'effet de chaque étape de traitement sur la teneur en acides aminés totaux dans deux usines de traitement d'eau potable ainsi que dans leurs réseaux de distribution.

Les résultats obtenus ont permis de suivre l'évolution de la teneur en acides aminés totaux au cours des différentes étapes de traitement des usins Sainte-Rose et Chomedey (Ville de Laval, Québec, CANADA) Cette analyse a été réalisée pour différentes températures de l'eau pour mettre en évidence les variations saisonnières en teneur et en composition.

L'étape de la floculation-coagulation contribue à une élimination de 34 à 72% des acides aminés totaux présents dans l'eau brute. L'ozonation augmente généralement la concentration mesurable en acides aminés. Cette augmentaion varie de 20 à 100%. Comme certains acides aminés libres ou combinés dans des structures peptidiques sont détruits par l'ozonation, cette observation peut paraître surprenante (HUREIKI *et al.*, 1994). Cette augmentation est plus marquée en eaux chaudes et influencée par la nature de l'eau brute. Cette augmentation pourrait être liée à l'effet de l'ozonation sur certaines matières organiques présentant des structures assez complexes ou des matières algales. L'ozonation pourrait entraîner la destruction de certaines de ces molécules, rendant les acides aminés incorporés dans leur structure plus accessible à la détection. La filtration sur CAB élimine de 24 à 34 % de la teneur en acides aminés totaux par rapport à l'étape précédente. L'efficacité d'élimination diminue avec la température et la teneur en acides aminés totaux augmente en eaux froides (moins de 1 °C). La chloration diminue significativement la teneur en acides aminés totaux en raison de leur réactivité élevée avec le chlore.

Les acides aminés totaux représentent une fraction importante du CODB dans les eaux brutes et à l'effluent des filtres CAB, mais ne sont pas de bons indicateurs de la concentration en CODB au long de la filière de traitement. Les acides aminés en fin de filière de traitement représentent une fraction

mesurable du CODB (généralement < 20%) mais leur concentration dans le réseau reste relativement constante.

D'autres expériences d'ozonation sur une eau filtrée sur sable et anthracite sont prévues afin d'expliquer l'augmentation significative des acides aminés totaux observée après ozonation dans les deux usines de traitements. Un suivi des acides aminés totaux sera réalisé sur une eau filtrée sur sable/anthracite après différents temps de contact d'ozone et pour différents taux d'ozone appliqués. L'efficacité d'enlèvement des acides aminés sur le filtre biologique en fonction des différents temps de contact sera également approfondi.

REMERCIEMENTS

Les travaux de recherche décrits dans cette publication ont été réalisés dans le cadre du stage post-doctoral de Madame Lina Hureiki à la Chaire Industrielle CRSNG (Conseil Recherche en Sciences Naturelles et en Génie du Canada) en Eau Potable de l'Ecole Polytechnique de Montréal. Les auteurs désirent remercier les organismes qui ont soutenu financièrement les travaux de la Chaire nommément: la Ville de Montréal, Ville de Laval, le groupe John Meunier-Compagnie Générale des Eaux, la firme d'Ingénieurs-conseils Vallée Lefebvre et le CRSNG. Le candidat au M.Sc.A., Carl Gauthier, est aussi soutenu financièrement par le FCAR. Nous voudrions également remercier P. Laurent, C. Poirier et J. Mailly pour leur collaboration au laboratoire et S. Perron et S. Desaulteis pour les échantillonnages.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

BAILEY J. E. et D.F. OLLIS, 1986. Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill, 984 p.

BEN AMOR H., J. DE LAAT et M. DORÉ, 1984. Mode d'action du bioxyde de chlore sur les composés organiques en milieu aqueux - Consommations de bioxyde de chlore et réactions sur les composés phénoliques.*Wat. Res.*, 18, 1545-1560.

BERNE F., N. MERLET, B. LEGUBE et B. CAUCHI, 1994. Évolution des acides aminés et de la matière organique dissoute dans une filière de production d'eau potable: corrélation avec le CODB et le potentiel de demande en chlore à long terme. Colloque International sur la Matière Organique Biodégradable, Montréal, et soumis au numéro spécial sur la MOB de la *Revue des Sciences de l'Eau*.

BILLEN, G., et P. SERVAIS, 1988. Modélisation des processus de dégradation bactérienne de la matière organique en milieu aquatique. Dans: Micro-organismes dans les écosystèmes océaniques, B. M. Masson edt., 219-245.

CONNOLLY, J. P., R. B.COFFIN et R. L. LANDECK, 1994. Modeling carbon Utilization by Bacteria in Natural Water Systems. dans: Modelling the Metabolic and Physiologic and Activities of Microorganisms, HURST, C. J., USEPA edt., John Wiley and Sons Inc., USA.

GLAZE W. et H. WEINBERG, 1993. Identification and Occurence of Ozonation By-Products in Drinking Water. AWWARF Report, AWWARF, Denver, Co., ISBN 0-89867-691-6, 170.

HUREIKI L., 1993. Étude de la chloration et de l'ozonation d'acides aminés libres et combinés en milieu aqueux dilué. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, n° d'ordre 21.

HUREIKI L., J. P. CROUÉ, B. LEGUBE and M. DORÉ. Ozonation of amino acids : Ozone demand and aldehyde formation potential. 11ième Congrès Mondial de l'Ozone, IOA, San Fransisco, Août-Septembre 1993.

HUREIKI L., J.P. CROUÉ and B. LEGUBE, 1994. Chlorination studies of free and combined amino acids. Acceptée pour publication dans *Wat. Res.*

HUREIKI L. et C. GAUTHIER, 1994. Évolution des acides aminés totaux dans les filières de traitement d'eau potable et dans les réseaux de distribution. Rapport d'avancement. Chaire CRSNG en eau Potable, Département de Génie Civil, École Polytechnique de Montréal. 28 p.

JADAS-HÉCART A., 1989. Contribution à l'étude de la demande en chlore à long terme d'une eau potable. Modélisation et identification de précurseurs organiques. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers, n° d'ordre 282.

LE CLOIREC C., P., LE CLOIREC, J. MORVAN et G. MARTIN, 1983. Évolution des produits organiques azotés (P.O.A.) dans différentes filières de potabilisation. *Journal Français d'Hydrologie*, 14, 59-74.

LE CLOIREC-RENAUD C., 1984. Analyse et évolution de la micropollution organique azotée dans les stations d'eau potable: Effet de la déchloration sur les acides aminés. Thèse Université Rennes I, École Nationale Supérieure de Chimie, n° d'ordre 174.

LYTLE M.S. and E.M. PERDUE, 1981. Free, proteinaceous and humic-bound amino acids in river water containing high concentrations of aquatic humus. *Environ. Sci. Technol.*, 15, 224-228.

MATHIEU L., 1992. La matière organique et la stabilité biologique des eaux au cours de leur distribution. Thèse, Université de Nancy I, Nancy, France.

PRÉVOST M., A. ROMPRÉ, H. BARIBEAU, J. COALLIER et P. LAFRANCE, 1994. Impact of Service Lines on the Microbiological Quality of Drinking Water. Submitted to *JAWWA*.

SERVAIS P., G. BILLEN, M. C. HASCOET, 1987. Determination of the Biodegradable Fraction of Dissolved organic Matter in Waters.,*Wat. Res.*, 21, 445-450.

SERVAIS P., A. ANZIL, C. VENTRESQUE, 1989. A Simple Method for Determination of Biodegradable Organic Carbon in Water. *Appl. Environ. Microbol.*,55, 2732-2734.

SERVAIS P., P. LAURENT et G. RANDON, 1994. Comparison of the Bacterial Dynamics in Various French Distribution Systems. En révision à *AQUA*.

SCULLY F.E., G.D. HOWELL, R. KRAVITZ , J.T. JEWELL, V. HAHN and M. SPEED, 1988. Proteins in natural waters and their relation to the formation of chlorinated organics during water desinfection. *Environ. Sci. Technol.*, 22, 537-542.

THURMAN E. M., 1985. Developments in Biochemistry: Organic geochemistry of natural waters, NIJHOFF M. and W. JUNK Publishers, DORDRECHT.

VOLK, C., 1994. Contrôle de la matière organique biodégradable au cours des traitements d'oxydation et de la distribution des eaux d'alimentation. Thèse de l'École Nationale des Ponts et Chaussées.

ANNEXE 3 :

RÉSULTATS BRUTS

CHAPITRE 1

Biomasse libre réacteurs de fonte par microscopie en épifluorescence

	Moyenne (bact./ml)	Ecart-Type (bact./ml)
Aff-03	8,58E+05	6,92E+04
O3-1h	8,67E+05	8,58E+04
O3-15h	3,18E+05	7,84E+04
Aff-03-Cl2	6,29E+05	1,14E+05
O3-1h-Cl2	6,53E+05	2,26E+05
O3-15h-Cl2	2,90E+05	5,45E+04
Aff-CAB	7,23E+05	9,42E+04
CAB-1h	7,70E+05	8,02E+04
CAB-15h	2,74E+05	1,08E+05
Aff-CAB-Cl2	5,93E+05	8,71E+04
CAB-1h-Cl2	3,40E+05	7,42E+04
CAB-15h-Cl2	2,62E+05	1,14E+05

Biomasse fixée réacteurs de fonte par BHA

	Moyenne (bact./cm2)	Ecart-Type (bact./cm2)
O3-1h	1,32E+06	6,34E+05
O3-15h	4,60E+07	2,39E+07
O3-1h-Cl2	3,28E+06	1,02E+06
O3-15h-Cl2	4,34E+07	1,57E+07
CAB-1h	4,79E+05	3,34E+05
CAB-15h	6,77E+07	2,06E+07
CAB-1h-Cl2	5,95E+05	3,88E+05
CAB-15h-Cl2	4,08E+07	1,30E+07

Biomasse fixée réacteurs de fonte par AEP

	Moyenne (bact./ml)	Écart-Type (bact./ml)
O3-1h	3,83E+07	9,15E+06
O3-15h	5,11E+07	1,21E+07
O3-1h-Cl2	4,20E+07	5,07E+06
O3-15h-Cl2	4,92E+07	1,64E+07
CAB-1h	1,64E+07	6,32E+06
CAB-15h	5,23E+07	1,33E+07
CAB-1h-Cl2	2,43E+07	2,80E+06
CAB-15h-Cl2	5,22E+07	1,46E+07

Biomasse fixée réacteurs de polycarbonate par AEP

	Moyenne (bact./cm2)	Ecart-type (bact./cm2)
O3-1h	1,85E+07	6,03E+06
O3-1h-Cl2	5,00E+05	-
O3-15h	2,88E+06	1,03E+06
O3-15h-Cl2	4,00E+05	-

Biomasse libre réacteurs de polycarbonate par microscopie en épifluorescence

	Moyenne	Ecart-type
Affluent	1,61E+05	7,05E+04
Affluent cl2	4,00E+04	4,24E+03
1h	2,07E+05	5,92E+04
1h-cl2	1,75E+05	1,05E+05
15 h	1,78E+05	7,05E+04
15h-cl2	2,55E+05	3,54E+04

CHAPITRE 2

Réseau de Ste-Rose, 25-08-93
Résultats de l'analyse des AAT

Points	Moyenne (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EffU	0,051	0,003
Po	0,059	0,015
P4	0,058	0,007
P6	0,060	0,014
P8	0,054	0,004
P12	0,064	0,015
CDS	0,054	0,002

Usine de Ste-Rose, 25-08-93
Résultats de l'analyse des AAT

Points	Moyenne (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EB	0,141	0,004
ED	0,064	0,010
EffSA	0,076	0,006
EffO	0,106	0,016
EffCAB	0,070	0,007
EffU	0,065	0,001

Réseau de Chomedey, 21/09/93
Résultats de l'analyse des AAT

Points	Moyenne (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EffU	0,064	0,005
P1	0,077	0,009
P2	0,077	0,010
P5	0,073	0,004
P9	0,070	0,002
P15	0,060	0,004
CDS	0,066	0,006

Usine Chomedey, 21/09/93
Résultats de l'analyse des AAT

Points	Moyenne (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EB	0,108	0,022
ED	0,043	0,011
EffSA	0,052	0,007
EffO	0,103	0,008
EffU	0,045	0,003

Usine de ste-Rose, (15/01/94)
Résultats de l'analyse des AAT

Points	Moyenne (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EB	0,251	0,054
ED	0,069	0,003
EffSA	0,082	0,021
EffO	0,071	0,001
AffCAB	0,073	0,013
EffCAB	0,109	0,006
EffU	0,067	0,016

Usine de Chomedey, 31/01/94
Résultats de l'analyse des AAT

Points	Moyenne (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EB	0,117	0,012
ED	0,078	0,010
EffSA	0,053	0,007
EffO	0,078	0,008
EffU	0,069	0,012

Effet de la filtration des échantillons: Usine de Ste-Rose
Résultats de l'analyse des AAT et des AATD

Points	AATD (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)	AAT (mgC/l)	Ecart-type (mgC/l)
EB	0,091	0,004	0,115	0,012
ED	0,071	0,013	0,074	0,011
EffSA	0,056	0,018	0,066	0,015
EffO	0,043	0,007	0,079	0,015
EffCAB	0,036	0,003	0,053	0,002

CHAPITRE 3

Suivi filtre CAB: usine Ste-Rose, 94-05-09

TCFV (min)	CODB (mg C/l)	Ecart-type (mg C/l)	COB (mg C/l)	Ecart-type (mg C/l)	COD (mg C/l)	Ecart-type (mg C/l)	COT (mg C/l)	Ecart-type (mg C/l)
0	0,83	0,08	0,89	0,05	3,27	0,06	3,44	0,05
2,5	0,88	0,04	0,75	0,07	3,3	0,04	3,29	0,03
4,6	0,81	0,06	0,8	0,11	3,19	0,05	3,28	0,14
8,8	0,81	0,11	0,79	0,11	3,18	0,08	3,33	0,07
12,9	0,79	0,05	0,71	0,07	3,18	0,01	3,1	0,05
17,1	0,83	0,05	0,78	0,06	3,21	0,04	3,15	0,04
21,3	0,76	0,09	0,66	0,10	3,13	0,07	3,06	0,12
25,4	0,63	0,05	0,54	0,11	3,03	0,05	2,89	0,10

TCFV (min)	N-NH3 (mg /l N-NH3)	4 hres (mg Cl2/l)	24 hres (mg Cl2/l)	72 hres (mg Cl2/l)	168 hres (mg Cl2/l)	240 hres (mg Cl2/l)
0	46,1	0	0	0	0	0
2,5	25	0,38	0,51	0,47	0,61	0,75
4,6	14,5	0,63	0,49	0,57	0,77	0,95
8,8	6,2	0,697	0,707	0,957	0,987	1,117
17,1	1,2	0,6191	0,7491	0,9391	0,9591	1,1091

TCFV (min)	AAT (mg C/l)	Ecart-type (mg C/l)	AATD (mg C/l)	Ecart-type (mg C/l)
0	0,175	0,008	0,178	0,015
2,5	0,171	0,013	0,126	0,029
4,6	0,159	0,054	0,137	0,033
8,8	0,162	0,015	0,129	0,035
17,1	0,13	0,028	0,093	0,015
25,4	0,083	0,023	0,096	0,017

CHAPITRE 4

Densité de biomasse fixée par AEP (mg C/l)

Jours	Aas –	Aas –	Aas +	Aas++
7	0,01	0,03	0,01	0,02
35	0,05	0,08	0,12	0,09
42		0,07	0,09	0,04
73	0,03	0,03	0,15	0,12
99	0,07	0,07	0,2	0,23
108	0,16	0,14	0,27	0,35
137	0,17	0,10	0,30	0,33
143	0,17	0,11	0,25	0,39
157	0,21	0,19	0,30	0,32
171	0,18	0,21	0,33	0,44
185	0,21	0,21	0,30	0,36
Equilibre:				
Jours 108 à 185		Aas-	Aas	Aas++
	Moyenne	0,19	0,30	0,38
	E.T.	0,04	0,03	0,05

Biomasse libre parmicroscopie en épifluorescence (log bactéries/ml)

Entrées	Aas-	Aas-	Aas+	Aas++
	5,61	5,85	6,12	6,08
5,13	6,02	5,81	6,00	6,25
5,16	5,89	5,90	6,10	5,83
5,89	5,95	5,92	6,29	5,86
5,31	5,82	5,64	5,88	5,70
5,43	5,97	5,88	6,01	5,95
5,64	5,79	5,79	5,83	5,73
5,61	5,63	5,82	5,83	5,85
5,55	5,90	6,06	5,96	5,96
5,14	5,71	5,66	5,63	5,78
Entrées	Aas-	Aas-	Aas+	Aas++
5,45	5,80	5,81	5,86	5,83
0,19	0,12	0,15	0,13	0,11

Résultats des analyses de COT

(mg C/l)	Jour 108	Jour 153	Jour 160	Moyenne	Ecart-type
E.-Tém.	1,76	1,77	1,78	1,77	0,008
E-Aas	1,89	1,90	1,83	1,87	0,039
E-Aas++	1,92	1,96	2,00	1,96	0,040
S-Tém.	1,61	1,63	1,51	1,58	0,064
S-Aas	1,58	1,54	1,47	1,53	0,053
S-Aas++	1,57	1,58	1,46	1,54	0,069

CHAPITRE 5

Essai en réacteur annulaire, Poitiers.

Résultats biomasse fixée par microscopie en épifluorescence

Temps (h)	Moyenne (bact./cm2)	Ecart-type (bact./cm2)
3	1,38E+07	2,80E+06
6	8,15E+06	3,50E+06
24	4,22E+06	2,20E+06
48	3,77E+06	4,60E+05
96	2,96E+06	5,20E+05

Résultats chlore résiduel libre et combiné

Temps (h)	Cl2 résiduel libre (mg/l)	Cl2 résiduel total (mg/l)
2,42	0	0,1
2,92	0	0,14
3,42	0	0,14
6,17	0	0,22
7,67	0	0,22
10,58	0,03	0,23
24	0,52	0,65
48	0,51	0,65
72	0,64	0,74

Résultats biomasse libre par microscopie en épifluorescence (bactéries/ml)

Temps (h)	R. chloré Moyenne	Ecart-type	Temps (h)	R. témoin Moyenne	Ecart-type
0	4,82E+06	417083,1252	0	4,61E+06	9,52E+05
3	5,20E+06	7,40E+05	3	-	-
6	3,45E+06	3,90E+05	6	-	-
24	2,16E+06	3,80E+05	24	-	-
48	1,97E+06	2,70E+05	48	-	-
96	2,45E+06	2,80E+05	96	4,89E+06	7,30E+05

Demande en chlore lamelles complètes

Temps	Moyenne (mg Cl/cm2)	Écart-type (mg Cl/cm2)
0	3,31E-03	1,93E-04
3	2,70E-03	1,40E-05
6	2,40E-03	7,80E-05
24	2,18E-03	6,40E-05
48	1,44E-03	5,30E-05

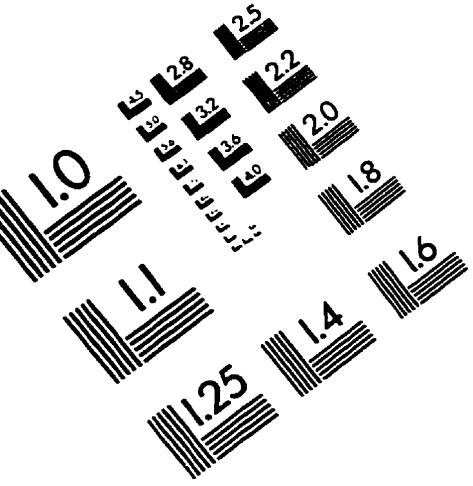
Mesures des AAT dans le biofilm

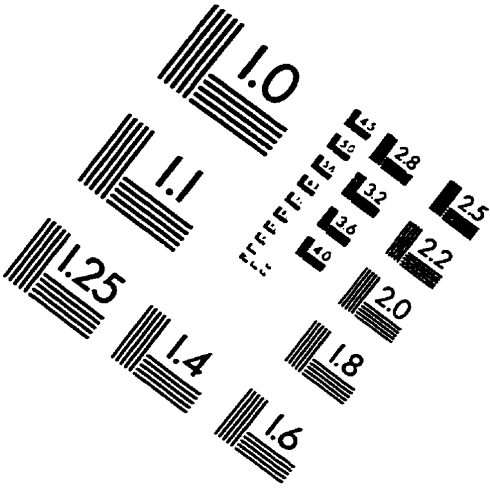
	Moyenne (mg C/cm2)	Ecart-type (mg C/cm2)
Lame T-0h	1,15E-04	2,68E-05
Lame T-48h	7,52E-05	1,21E-05
Lame Cl2-0h	8,04E-05	6,01E-06
Lame Cl2-4h	1,46E-05	2,17E-06
Lame Cl2-6h	2,02E-05	5,15E-06
Lame Cl2-24h	4,14E-06	2,11E-06
Lame Cl2-48h	1,18E-05	5,86E-06

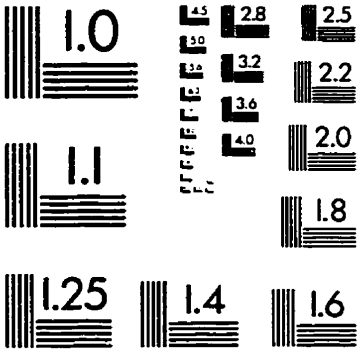
Demandes en chlore 4 heures Réacteur École Polytechnique

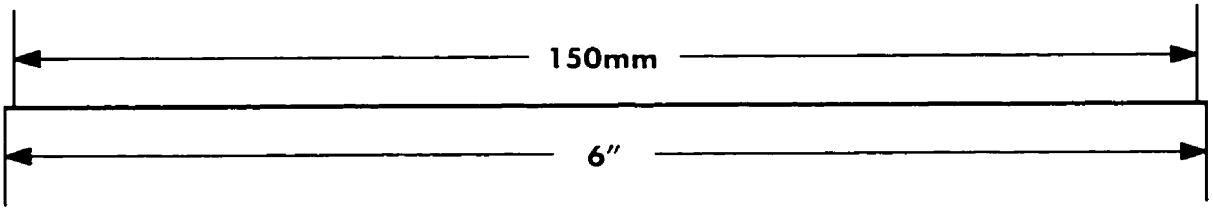
Type d'échantillon	Moyenne (mg Cl/cm2)	Ecart-type (mg Cl/cm2)
Suspension de biofilm	6,31E-03	1,00E-04
lamelle complète avec biofilm intact	4,35E-03	1,20E-04
Lamelle grattée 3 fois de suite	1,79E-03	-
Lamelle grattée une seule fois	2,59E-03	4,00E-04
Lamelle dont le biofilm ET la face endo ont été grattés	2,76E-03	4,40E-04
Biofilm, 2ème extraction	1,61E-03	-
Biofilm, 3ème extraction	4,49E-04	-
Face endo, 1ère extraction	1,27E-03	3,40E-04

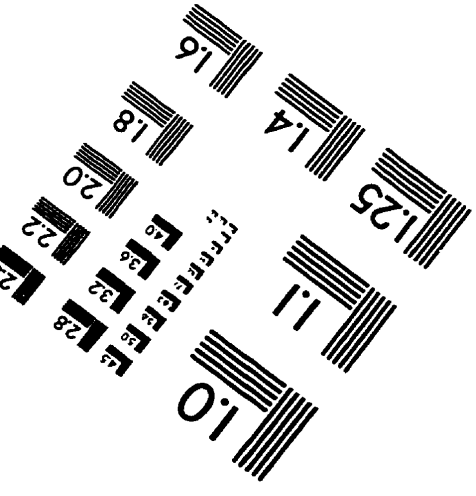
IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)

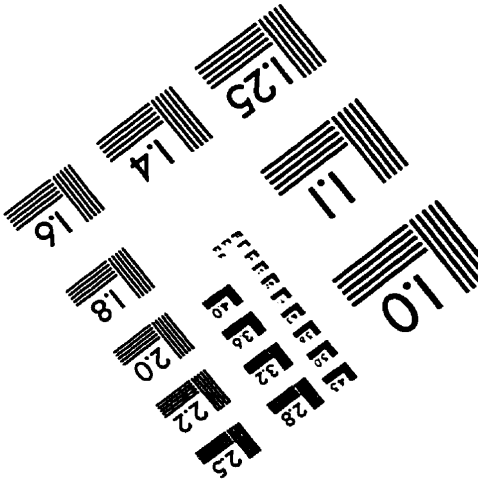












APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved