

Etude du traitement de désinfection des eaux de refroidissement par le couplage H2O2/UV : application à une tour aéroréfrigérante

Tamara Putois

▶ **To cite this version:**

Tamara Putois. Etude du traitement de désinfection des eaux de refroidissement par le couplage H2O2/UV : application à une tour aéroréfrigérante. Autre. Université de Grenoble, 2012. Français. NNT : 2012GRENA025 . tel-00780333

HAL Id: tel-00780333

https://theses.hal.science/tel-00780333

Submitted on 23 Jan 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

THÈSE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Chimie**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par

Tamara PUTOIS

Thèse dirigée par **Sylvie GUITTONNEAU**

préparée au sein du **Laboratoire Chimie Moléculaire et Environnement** dans **l'École Doctorale des Sciences et Ingénierie des Systèmes, de l'Environnement et des Organisations**

Etude du traitement de désinfection des eaux de refroidissement par le couplage H_2O_2/UV : Application à une tour aéroréfrigérante

Thèse soutenue publiquement le **10 octobre 2012**,
devant le jury composé de :

Mme Chantal GUILLARD
Directeur de Recherche CNRS – IRCELYON, Villeurbanne, Rapporteur

Mme Nathalie KARPEL VEL LEITNER
Directeur de Recherche CNRS – IC2MP, Poitiers, Rapporteur

Mr Dominique FONTVIEILLE
Professeur à l'Université de Savoie – CARRTEL, Bourget-du-Lac, Examinateur

Mr Philippe ZYDOWICZ
Ingénieur Recherche H_2O_2 environnement – ARKEMA, Pierre-Bénite, Examinateur

Mme Sylvie GUITTONNEAU
Professeur à l'Université de Savoie – LCME, Bourget-du-Lac, Directeur de thèse

Université Joseph Fourier / Université Pierre Mendès France /
Université Stendhal / Université de Savoie / Grenoble INP

REMERCIEMENTS

IL ETAIT UNE FOIS, UNE THESE…

Qui l'eût cru ? Une thèse… Au Bourget… En chimie, avec de la microbiologie… Et bien, oui, tout est possible ! Certains n'ont pas compris, d'autres m'ont dit de foncer et ils ont eu raison !

La thèse est un grand puzzle. Au départ, on pose des pièces, on essaye de faire le cadre, mais ce n'est pas toujours évident… Parfois, on pense que cette pièce rentre à cet emplacement, on y croit fort, on en est sûr ; et non, ce n'est pas là… On prend donc une nouvelle pièce et on réessaye encore et encore… Le contour du puzzle ne vient qu'en toute fin : la tant redoutée rédaction ! Et oui, c'est l'aboutissement du travail : on y place alors tous les morceaux déjà construits et éparpillés à droite à gauche. Certains y trouvent rapidement leur place, d'autres restent dans la boîte en attendant tranquillement leur tour. Puis, à un moment donné, avec l'aide d'une personne extérieure – des oreilles bien attentives, un regard autre, ma chef – tout finit par prendre place. Les dernières pièces manquantes apparaissent alors dans la boîte, il suffit de les mettre au bon endroit. C'est enfin l'heure ; le puzzle est terminé ! Il ne reste plus qu'à le présenter, à le dévoiler.

Les premiers lecteurs « extérieurs » sont les rapporteurs. Je vous remercie de votre relecture attentive de ce manuscrit afin de lui donner les dernières corrections et sa forme définitive. Merci également à l'ensemble des membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail.

Un tel projet ne peut se réaliser seul. De nombreuses personnes y jouent un rôle par leur aide, leur présence, leur soutien, que ce soit sur une petite période, quelques jours, quelques mois, ou sur toute la continuité. Je remercie ainsi :

La personne présente du début à la fin, m'aiguillant sur ce travail, toujours à l'écoute, toujours disponible pour faire un point, riche de conseils et de sa vision globale. Merci Sylvie de m'avoir supporté pendant tout ce temps avec des bons et moins bons moments. En espérant ne pas t'avoir fait trop de soucis ou frayeurs à certaines périodes…

Les personnes du projet LEGIOSECURE. Philippe ZYDOWICZ et Sébastien QUETTIER (super binôme de Grenoble !) d'ARKEMA et toutes les réunions d'avancement ; Xavier BAYLE de BIO-UV pour le matériel et ma petite virée à Lunel ; Marie-Eve GSTALDER de COFELY-CYLERGIE qui, comme moi, espère toujours que le monde des bisounours existe quelque part ; Charles DUBOST et Sylvain ROUANET de THETIS ENVIRONNEMENT pour leurs informations sur le Securox® ; Pascal DE RIENZO (CG38) et Dominique REVAUX (HYDROTECH) pour avoir supporté toutes mes questions sur les TAR du CG38 et pour toujours y avoir trouvé des réponses !

Les personnes m'ayant formé dans de nouveaux domaines, sur de nouvelles techniques analytiques. Merci à Dominique, Sylvie, Zineddine et Cécile pour m'avoir fait part de vos connaissances en microbiologie et m'avoir accueilli dans votre laboratoire pour les manip'. Merci à Nicolus, Nico, Valérie pour mon squattage très régulier au TOC (« Oui, le TOC, il est TOC TOC parfois »), la magnifique chromatographie ionique (qui m'a bien

embêté avec ses dédoublements de pics…) ou encore l'absorption atomique (avec toujours une petite appréhension à la mise en route de la flamme, mais rien n'a jamais explosé !). Un grand merci à Joël et Claude pour le pilote, tant sur le montage que les petits problèmes quotidiens ! Merci pour les diaphragmes (« Hourra les débits sont stables ! »), les tournevis (avec des doigts en moins…) et toutes les petites astuces de Monsieur Jojo, qui impose une écoute attentive car on en apprend tellement !

Les petites mains qui m'ont aidé, que ce soit des stagiaires travaillant avec Sylvie – Mathias, l'inexistant ; Aurélie, merci pour ma semaine de vacances ! – ou des stagiaires, Benoît et Martinus, qui ont pris du temps pour m'aider et même faire ma vaisselle ! Il y a eu aussi de « grands » stagiaires (Alex, Maurice, Nicolus, Titine, Vio), que ce soit pour la vaisselle, un point de prélèvement lorsque j'étais en cours, ou parce que mes deux mains ne sont pas suffisantes pour tout faire en même temps, ou juste pour passer un bon moment ensemble (La DBO… « C'est trop marrant avec Tamara, ça fait piscine ! »).

Les « collègues » bien plus que des collègues. Et oui, il y a une vie au laboratoire, mais aussi en dehors. Certains sont encore là, ou à quelques kilomètres, ou bien plus loin… Mais quels souvenirs avec Alex, Titine, Maurice, Sam, Youssouf, Greg, Vio, Nath' mais aussi Nicolus (et Adèle !), et dernièrement Lili, Benj' (ou Guillaume ou Barbara… j'avoue ne plus savoir…), Yann et tous les autres doctorants qui se donnent la peine de venir aux apéros qui ont pu être organisés. Un grand merci aux filles du COET (Comité d'Organisation des Evènements Thésards) ! Toujours à l'écoute, toujours présentes dans les bons moments comme les mauvais… et qui sont maintenant à Grenoble. Merci aux filles du labo encore présentes en cette fin de thèse, qui m'ont toujours accueilli avec le sourire les midis pour ma pause « sociale » de la journée et qui m'ont accepté dans leur bureau lors d'après-midi de travail !

Le LCME dans son intégralité. Merci pour votre écoute lors des séminaires alors que je faisais des « trucs bizarres ». Votre participation aux évènements organisés : repas de Noël, anniversaires surprise, barbecue, repas pique-nique, les traditionnels croque-monsieur et croc'nut' des vacances. Un merci particulier à Manu pour m'avoir accordé un allègement du règlement du laboratoire afin que je puisse manipuler comme je le devais, à des heures pas toujours raisonnables… je le conçois !

Les amis présents avant cette thèse. Ils ne comprennent pas tout, mais sont toujours présents avec des petits messages à droite à gauche, des visites quand on en trouve le temps. Merci à Arnaud (et Carine !), Laurent, et aussi Caro, Mélie et Sandra qui se sont faites plus discrètes ces derniers temps à mon grand regret. Il y a aussi Elise et Yohann, bien présents lors de mes débuts de thésarde avant qu'ils ne trouvent du travail ailleurs.

La famille proche : mes parents, ma sœur et mon frère ! Qu'est-ce que vous allez être contents que ça se termine ! Pas toujours évident de me suivre habituellement, alors encore pire quand on n'est pas dans le domaine… Mais j'ai toujours trouvé une oreille pour m'écouter, des épaules pour me soutenir et une porte toujours ouverte pour m'accueillir lors des périodes difficiles. Mais attention, je crois qu'il est possible que je vous embête encore, mais n'est-ce pas pour cela que vous m'aimez… Merci aussi aux personnes « rapportées » de la famille : Margotte (qui aurait pu croire que toi – en psycho – m'aiderait autant en stats !), les jumelles Marion et Célia, et le petit Malcolm (quoi de mieux que ce petit bout pour retrouver son âme d'enfant qui, parfois, part un

peu trop loin…). Il y a aussi la famille un peu plus éloignée mais ayant joué un rôle dans mon arrivée jusqu'ici : la famille Lloret et ma vie grenobloise avec mon stage au CEA (une pensée particulière à Madeleine partie au cours de cette rédaction) ; ma marraine et mon oncle et la vie parisienne avec les oraux des concours d'écoles d'ingénieurs.

Il y a aussi les « à-côtés » de la thèse – bien nécessaires – et autres que toutes les soirées et sorties entre amis ou seulement collègues… Les vacations, qui bien qu'étant du travail, m'ont permis de varier les plaisirs avec du Génie des Procédés et de la Thermodynamique et d'oublier quelques instants la thèse, même si bien souvent les manips' tournaient en parallèle. Un merci à Evelyne, Nolwenn, Yves, Thierry pour leur aide bien nécessaire pour mener à bien ces travaux pratiques et travaux dirigés. Merci à Michel aussi, qui parfois est venu me dépanner (« Oui, je dois te l'avouer maintenant… J'ai bien tué la maman lapin lors d'une venue très tardive à la fac… J'espère que ses petits auront survécu ! »). Une pensée pour les filles de la GV et la coupure hebdomadaire avec une heure de sport tout en bonne humeur ; mais également pour mes voisins et certains animaux dont j'ai pu m'occuper (peut-être une future reconversion, qui sait ?). En tout cas, il s'agit de bons souvenirs d'une vie paisible à Bourdeau que je quitte à regret !

Je finirai par remercier tous ceux qui m'ont continuellement supporté lors de cette rédaction réalisée chez moi… : mon poisson que je suis étonnée de ne pas avoir tué à cause du manque de nourriture ou d'une eau de qualité très médiocre ; mon super gilet polaire qui m'a permis de ne pas congelée et de ne pas devenir con-gelée (oui, oui, la rédaction fait des ravages). Il y a aussi tous ces artistes passant en boucle : Adèle, Aliose, Cocoon, Coldplay, les Cowboys Fringants, Da Silva, Ludivico Einaudi, Ycare ; et ceux que j'ai pu voir en concert pendant cette phase rédactionnelle (il faut bien s'accorder quelques pauses, non ?) : Aldebert (avec P. et super cadeau des amis du labo !), Bénabar (avec les Grenobloises, quel plaisir que de vous avoir revu à cette occasion !), DSLZ (Enfin ! avec mon acolyte de concert, et plutôt deux fois qu'une ! « A quand le prochain ? »). N'oublions pas les années 80 et surtout Oldelaf pour les grosses périodes de craquage et de folie qui vont avec !

En espérant que ces quelques mots toucheront les personnes citées et vous donneront l'envie de poursuivre un peu plus loin cette lecture.

AVANT-PROPOS

Cette thèse s'inscrit dans le programme LEGIOSECURE, du pôle de compétitivité à vocation mondiale AXELERA, Chimie et Environnement Lyon & Rhône-Alpes. Ce projet R&D collaboratif a pour objectif d'étudier de nouvelles solutions de traitement du risque légionelle dans le contexte de tours aéroréfrigérantes, économes en énergie et respectueuses de l'environnement.

Réalisée au Laboratoire de Chimie Moléculaire et Environnement (LCME) et au Centre Alpin de Recherche sur les Réseaux Trophiques et des Ecosystèmes Limniques (UMR CARRTEL) – laboratoires de l'Université de Savoie – cette étude s'inscrit dans le sous-projet « PEROX, traitement du risque légionelle par le peroxyde d'hydrogène », avec l'appui des entreprises ARKEMA et BIO-UV.

Les autres partenaires participant au projet sont :

THETIS-ENVIRONNEMENT

ELYO-CYLERGIE

CNRS UMR 5240

JACIR

ONDEO IS

NALCO

L'application du traitement H_2O_2/UV sur une tour aéroréfrigérante s'est effectuée sur le site du CONSEIL GENERAL DE L'ISERE, avec l'accord du traiteur d'eau HYDROTECH.

Ces travaux ont été réalisés avec le soutien financier de la région Rhône-Alpes.

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS I

AVANT-PROPOS V

SOMMAIRE VII

TABLE DES FIGURES XI

TABLE DES TABLEAUX XV

GLOSSAIRE XVII

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE 5

I. LEGIONELLES ET BIOFILMS 5

I.1. Biofilms 5

I.2. Légionelles 7

I.3. Résistances aux traitements 8

II. SOLUTIONS ACTUELLES DE TRAITEMENT DES TAR 9

II.1. Traitements physiques 10

II.1.1. Traitement thermique 10

II.1.2. Ultraviolets 12

II.1.3. Ultrasons 17

II.1.4. Utilisation couplée d'un traitement physique 22

II.2. Traitements chimiques 22

II.2.1. Généralités sur les biocides 22

II.2.2. Biocides oxydants 25

II.2.3. Biocides non-oxydants 43

II.2.4. Biodispersants 47

III. PROCEDES D'OXYDATION AVANCEE 49

III.1. Radicaux hydroxyles 50

III.1.1. Mécanismes de réaction des radicaux hydroxyles 50

III.1.2. Radicaux hydroxyles et microorganismes 51

III.1.3. Pièges à radicaux 52

III.2. Procédé H_2O_2/UV 52

III.2.1. Photolyse du peroxyde d'hydrogène 52

III.2.2. Mécanisme réactionnel d'oxydation par H_2O_2/UV 53

III.2.3. H_2O_2/UV et matière organique 54

III.2.4. H_2O_2/UV et microorganismes 55

III.2.5. Avantages et inconvénients du procédé H_2O_2/UV 57

IV. BILAN 58

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES 59

I. CONCEPTION ET REALISATION D'UN PILOTE DE LABORATOIRE 59

I.1. Description des montages réactionnels 59

I.2. Caractérisation du pilote 62

I.2.1. Détermination des temps de séjour 62

I.2.2. Cinétique 63

I.3. Détermination de la puissance lumineuse et dose UV 64

I.3.1. Actinométrie 64

I.3.2. Dose UV 66

II. REALISATION DES ESSAIS 68
II.1. Réactifs 68
II.1.1. Réactifs courants 68
II.1.2. Produits de conditionnement des eaux de refroidissement 68
II.2. Caractérisation de l'eau à traiter 69
II.3. Mise en œuvre des essais 71
II.3.1. Phase d'ensemencement du réacteur 71
II.3.2. Phase de traitement 72
II.3.3. Phase de nettoyage 72
II.4. Suivi analytique 73
III. METHODES D'ANALYSES 74
III.1. Analyses physico-chimiques 74
III.2. Analyses chimiques 74
III.2.1. Peroxyde d'hydrogène 74
III.2.2. Dioxyde de chlore 74
III.2.3. Carbone organique : COD, COT 74
III.2.4. Biodégradabilité : DCO et DBO_5 75
III.2.5. Charge ionique de l'eau 75
III.2.6. Analyses spécifiques aux produits de conditionnements 75
III.3. Analyses microbiologiques de l'eau et des biofilms 76
III.3.1. ATP 76
III.3.2. Bactéries cultivables 77
III.3.3. Bactéries totales 77
III.3.4. Légionelles 77

CHAPITRE 3 : ETUDE DU TRAITEMENT H_2O_2/UV SUR UN PILOTE DE LABORATOIRE 79
I. VALIDITE STATISTIQUE DES ESSAIS EN LABORATOIRE 79
I.1. Reproductibilité des essais du banc de « référence » 79
I.2. Comparaison des deux bancs d'essais 83
II. EFFICACITE DE DESINFECTION DES TRAITEMENTS UV, H_2O_2 ET H_2O_2/UV 85
II.1. Traitement UV 85
II.2. Traitement H_2O_2 88
II.3. Traitement H_2O_2/UV 91
III. INTERACTION DES BACTERIES AVEC LE PEROXYDE D'HYDROGENE 96
IV. IMPACTS DES TRAITEMENTS UV, H_2O_2 ET H_2O_2/UV SUR LA MATIERE ORGANIQUE 101
IV.1. Traitement des échantillons 101
IV.1.1. Impacts de la congélation 101
IV.1.2. Impacts de la concentration 102
IV.2. Test de biodégradabilité 104
IV.3. Caractérisation spectroscopique de la matière organique 107
IV.3.1. Analyse des spectres d'absorption et de fluorescence 107
IV.3.2. Modification des paramètres spectroscopiques par l'application des différents traitements 109
IV.3.3. Evolution temporelle des paramètres spectroscopiques UV au cours des traitements 113
V. IMPACTS DES TRAITEMENTS SUR LES PRODUITS DE CONDITIONNEMENT SELECTIONNES 115
V.1. Etude de l'oxydation de l'AMP et HEDP par le système H_2O_2/UV 116
V.2. Etude de l'oxydation de l'A-REF 610 par le système H_2O_2/UV 118
VI. APPLICATION DU TRAITEMENT AU SEIN D'UNE TAR 119

CHAPITRE 4 : APPLICATION DU TRAITEMENT H_2O_2/UV SUR UNE TOUR AEROREFRIGERANTE – COMPARAISON AVEC LE TRAITEMENT AU DIOXYDE DE CHLORE 121

I. DESCRIPTION ET CARACTERISTIQUES DU SITE D'ETUDE 121

I.1. Présentation de l'installation 121

I.1.1. Fonctionnement 123

I.1.2. Caractéristiques et réglages 123

I.1.3. Conditionnement de l'eau 124

I.1.4. Traitements de désinfection 124

I.1.5. Périodes d'essai 124

I.2. Caractérisation fonctionnelle des TAR 124

I.2.1. Bilans matière 125

I.2.2. Puissances échangées 127

II. CONDITIONS D'APPLICATION DES TRAITEMENTS ET SUIVI DES PERFORMANCES DE TRAITEMENT 129

II.1. Traitement H_2O_2/UV 129

II.1.1. Mise en œuvre 129

II.1.2. Doses UV 130

II.1.3. Taux de traitement appliqués 132

II.2. Traitement au dioxyde de chlore 134

II.2.1. Mise en œuvre 134

II.2.2. Bilan matière 135

II.3. Suivi analytique 137

III. RESULTATS SUR LES PERFORMANCES DE DESINFECTION DES TRAITEMENTS H_2O_2/UV ET ClO_2 138

III.1. Efficacité de désinfection de l'eau 139

III.1.1. Qualité bactériologique de l'eau d'appoint 139

III.1.2. Traitement par H_2O_2/UV 141

III.1.3. Traitement au dioxyde de chlore 143

III.1.4. Cas des légionelles 144

III.2. Formation et développement des biofilms 145

III.2.1. Traitement par H_2O_2/UV 147

III.2.2. Traitement au dioxyde de chlore 151

III.2.3. Cas des légionelles 152

III.3. Impacts environnementaux des traitements 153

III.3.1. Couplage H_2O_2/UV 153

III.3.2. Dioxyde de chlore 153

III.3.3. Devenir de l'additif suite à l'application des traitements 156

IV. EVALUATION DES COUTS DE FONCTIONNEMENT 158

V. CONCLUSION 159

CONCLUSION ET PERSPECTIVES 161

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 165

ANNEXE A : CLASSIFICATION DES TOURS AEROREFRIGERANTES 191

ANNEXE B : ARRETE DU 13 DECEMBRE 2004 – RELATIF AUX INSTALLATIONS DE REFROIDISSEMENT PAR DISPERSION D'EAU DANS UN FLUX D'AIR 193

ANNEXE C : CARACTERISTIQUES DU REACTEUR UV 205

ANNEXE D : EAU DE CONSOMMATION DU BOURGET-DU-LAC 207

ANNEXE E : VALEURS ABSOLUES ET ABATTEMENTS DES PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES (ESSAIS EN LABORATOIRE) 211

ANNEXE F : EAU DE CONSOMMATION DE GRENOBLE 213

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Evolution du nombre de cas de légionellose en France (Source : Institut de Veille Sanitaire) 2
Figure 2 : Structure et vie dans un biofilm (Peggy Dirkx, Center for Biofilm Engineering, Montana State University, Bozeman, MT) (Flemming et al., 2009) 6
Figure 3 : Effet de la température sur le développement de *Legionella* (Brundrett, 2003) 11
Figure 4 : Effet de la température de l'eau du bassin sur la concentration moyenne en légionelles (25 tours) (Broadbent, 1993).....12
Figure 5 : Génération acoustique d'une bulle de cavitation par les ultrasons (Mason et Pétrier, 2004) 18
Figure 6 : Actions de différents biocides sur les bactéries, spores, champignons et virus (Russell et al., 1997).....23
Figure 7 : Ion bromonium 29
Figure 8 : Formules développées de : (a) 3-bromo-1-chloro-5,5-diméthylhydantoïne (BCDMH), (b) 2,4-dibromo-5,5-diéthylhydantoïne (DBDMH) 29
Figure 9 : Schéma du traitement effectué par l'installation Coolzon® (Aquarama, 2009) 36
Figure 10 : Formule développée du diéthyldithiocarbamate de sodium.....44
Figure 11 : Formule développée générale des isothiazolones 44
Figure 12 : Formules développées d'espèces de la famille des biguanides 45
Figure 13 : Formules développées du (a) formaldéhyde et (b) glutaraldéhyde.....45
Figure 14 : Formules développées du (a) CADBA, (b) ATMD et (c) CDDA 46
Figure 15 : Formule développée du 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamide 47
Figure 16 : Mécanisme d'oxydation du procédé H_2O_2/UV (Baig et Mouchet, 2010) 54
Figure 17 : Schéma du pilote de laboratoire.....60
Figure 18 : Un banc de réacteurs biologiques.....61
Figure 19 : Distribution cumulée des temps de séjour.....63
Figure 20 : Répartition des points de prélèvement dans le réservoir 64
Figure 21 : Evolution temporelle de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en différents points du pilote.....64
Figure 22 : Photolyse du peroxyde d'hydrogène à 254 nm dans le pilote de laboratoire.66
Figure 23 : Formules développées de (a) AMP et (b) HEDP 68
Figure 24 : Formule développée générale des polymères carboxyliques 69
Figure 25 : Evolution temporelle des paramètres microbiologiques (eau et biofilms) soumis à l'irradiation UV : (a) ATP, (b) Bactéries cultivables, (c) Bactéries totales, (d) COD, COT et (e) Transmittance à 254 nm.....86
Figure 26 : Evolution temporelle des paramètres microbiologiques (eau et biofilms) soumis à un traitement d'oxydation au peroxyde d'hydrogène : (a) ATP, (b) Bactéries cultivables, (c) Bactéries totales, (d) COD, COT et (e) Transmittance à 254 nm.....89

Figure 27 : Evolution temporelle des paramètres microbiologiques (eau et biofilms) soumis au traitement H_2O_2/UV : (a) ATP, (b) Bactéries cultivables, (c) Bactéries totales, (d) COD, COT et (e) Transmittance à 254 nm 92

Figure 28 : Evolution temporelles du (a) COD et du (b) COT au cours du traitement par le couplage H_2O_2/UV selon la concentration en peroxyde d'hydrogène appliquée 94

Figure 29 : Flux injectés et concentrations en peroxyde d'hydrogène au cours des traitements par du peroxyde d'hydrogène seul 96

Figure 30 : (a) Concentrations et (b) flux injectés de peroxyde d'hydrogène au cours des traitements H_2O_2/UV 97

Figure 31 : Dégradation du peroxyde d'hydrogène au sein des réacteurs biologiques après application des traitements testés 98

Figure 32 : Recontamination des surfaces du réacteur par Pseudomonas aeruginosa après application de 610 $mg.L^{-1}$ H_2O_2 ou 604 $mg.L^{-1}$ H_2O_2 et 600 $\mu g.L^{-1}$ $AgNO_3$ pendant 24 heures (Schulte, 2003) 99

Figure 33 : Impacts de la congélation sur un mélange tryptone / substances humiques (0,5 / 2,5 $mg.L^{-1}$ de COD) 102

Figure 34 : Impacts de la concentration sur un mélange tryptone / substances humiques (0,5 / 2,5 $mg.L^{-1}$ de COD) 103

Figure 35 : Impacts de la concentration sur l'échantillon moyen du banc « traitement » en fin de phase de stabilisation 104

Figure 36 : Spectres UV et de fluorescence d'une solution de tryptone à 0,5 $mg.L^{-1}$ de COD et d'acides humiques à 2,5 $mg.L^{-1}$ de COD 107

Figure 37 : Localisation des pics de la matrice excitation / émission basée sur la littérature et définissant 5 régions (Chen et al., 2003) 108

Figure 38 : Spectres UV-Visible selon l'étape de traitement 109

Figure 39 : Spectres de fluorescence (a) de la solution d'ajout de matière organique, (b) en fin de phase d'ensemencement (banc de « traitement »), (c) après application du traitement 110

Figure 40 : Evolution temporelle de l'aromaticité et de la couleur lors de l'application des différents traitements (a) absorbance à 280 nm ; (b) $SUVA_{254}$ et (c) absorbance à 400 nm 113

Figure 41 : Rappel des formules développées de (a) AMP et (b) HEDP 116

Figure 42 : Evolution temporelle de la conversion en s selon le traitement et la concentration en (a) ATMP, (b) HEDP 117

Figure 43 : Evolution temporelle relative de la teneur en zinc dissous selon (a) le traitement appliqué – $[H_2O_2]_0$ = 30 $mg.L^{-1}$, (b) la concentration en H_2O_2 – [A-REF 610]$_0$ = 70 $mg.L^{-1}$) 118

Figure 44 : Evolution temporelle relative de la teneur en COT selon le traitement appliqué – $[H_2O_2]_0$ = 30 $mg.L^{-1}$ 119

Figure 45 : Schéma de principe du refroidissement au Conseil général de l'Isère 122

Figure 46 : Fonctionnement d'une tour aéroréfrigérante et notations employées 123

Figure 47 : Evolution temporelle des débits d'appoint et de purge des TAR 125

Figure 48 : Evolution temporelle des facteurs de concentration 126

Figure 49 : Evolution temporelle des puissances échangées des deux TAR.....129
Figure 50 : Positionnement des lampes UV dans la bâche de la TAR.....129
Figure 51 : Schéma illustratif des hypothèses pour la détermination de la dose UV au sein de la tour aéroréfrigérante.....130
Figure 52 : Evolution temporelle (a) de la concentration résiduelle et (b) du flux injecté de peroxyde d'hydrogène.....133
Figure 53 : Flux injecté et résiduel de dioxyde de chlore dans la TAR.....134
Figure 54 : Supports des lames de verre placés dans la TAR traitée au ClO_2 et récupération d'une lame de verre pour analyse.....138
Figure 55 : Comparaison des teneurs en bactéries cultivables avec les traitements utilisés sur les années 2009 à 2011.....140
Figure 56 : Evolution temporelle des bactéries totales dans l'eau des TAR en 2011 141
Figure 57 : Evolution temporelle du Carbone Organique Total.....143
Figure 58 : Suivi de *Legionella* dans l'eau par analyse par PCR.....145
Figure 59 : Evolution temporelle des biofilms développés sur lames de verre au sein des tours aéroréfrigérantes traitées par H_2O_2/UV et ClO_2 et comparaison avec le traitement Isothiazolone / DBNPA de (a) l'ATP, (b) les bactéries cultivables, (c) les bactéries totales, (d) le ratio entre bactéries cultivables et totales.....147
Figure 60 : Consommation de peroxyde d'hydrogène dans la TAR avec arrêt du groupe froid et de la ventilation. Concentration initiale en $H_2O_2 \approx 20$ mg.L^{-1}.....149
Figure 61 : Détermination de l'origine de consommation excessive de peroxyde d'hydrogène au sein de la tour aéroréfrigérante. Concentration initiale en $H_2O_2 \approx$ 22 mg.L^{-1}.....151
Figure 62 : Formation des ions (a) chlorite et (b) chlorate à partir du dioxyde de chlore consommé.....155
Figure 63 : Evolution du zinc dissous sur le site du Conseil général de l'Isère.....158
Figure A.1 : Différents types de tours aéroréfrigérantes[1,2].....192
Figure A.2 : Configuration du réacteur UV (Partie 1).....205
Figure A.3 : Configuration du réacteur UV (Partie 2).....206
Figure A.4 : Situation des sources d'alimentation en eau du site de Savoie Technolac 207
Figure A.5 : Réseau d'alimentation en eau potable du site de Technolac 208
Figure A.6 : Situation de la source d'alimentation de Grenoble.....213

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Efficacité du peroxyde d'hydrogène contre les biofilms 42
Tableau 2 : Potentiel d'oxydation (Parsons et Williams, 2004).....49
Tableau 3 : Applications des POA (Parsons et Williams, 2004).....50
Tableau 4 : Caractéristiques de la lampe UV.....61
Tableau 5 : Dose UV moyenne des essais réalisés sur le pilote de laboratoire 67
Tableau 6 : Composition des produits Dequest 2000® et Dequest 2010®.....69
Tableau 7 : Caractéristiques de l'eau reconstituée.....71
Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques de la source.....71
Tableau 9 : Evolution des paramètres microbiologiques de l'eau passée sur charbon actif dans un pilote « nettoyé » 72
Tableau 10 : Suivi analytique des essais sur pilote de laboratoire.....73
Tableau 11 : Etendue des valeurs initiales rencontrées sur le banc de « référence » et le banc de « traitement » après les 12 jours d'ensemencement du pilote 80
Tableau 12 : p-value et significativité du facteur temps sur les paramètres microbiologiques étudiés sur le banc « référence ».....82
Tableau 13 : p-value et différences significatives entre le banc de « référence » et les valeurs initiales du banc de « traitement » 84
Tableau 14 : Essais réalisés en laboratoire 85
Tableau 15 : Efficacité de désinfection des traitements UV, H_2O_2 et H_2O_2/UV 95
Tableau 16 : Demande chimique et biochimique en oxygène et rapport DCO/DBO_5 selon les différentes phases de traitement 106
Tableau 17 : Evolution selon le traitement appliqué de (a) l'absorbance à 280 nm, (b) le $SUVA_{254}$.....111
Tableau 18 : Teneurs initiales « théoriques » en carbone organique total et phosphore total suite à l'introduction d'AMP ou HEDP.....116
Tableau 19 : Récapitulatif des bilans en débit 126
Tableau 20 : Puissances globales échangées sur chaque TAR selon l'essai.....128
Tableau 21 : Détermination du trajet optique moyen selon les lampes UV utilisées ...131
Tableau 22 : Doses UV obtenues lors de l'étude en laboratoire et lors de l'étude sur une tour aéroréfrigérante 132
Tableau 23 : Conditions opératoires sur la tour aéroréfrigérante traitée par le couplage H_2O_2/UV 133
Tableau 24 : Impact de l'injection de dioxyde de chlore sur différents paramètres 135
Tableau 25 : Bilan massique en atomes de chlore sur la TAR traitée au dioxyde de chlore.....136
Tableau 26 : Suivi analytique au CG38.....137
Tableau 27 : Synthèse des taux de traitement appliqués sur les années 2009 à 2011 139
Tableau 28 : Concentration moyenne en zinc dissous et en carbone organique total selon les essais et les traitements appliqués.....157

Tableau 29 : Coût d'application des traitements (a) pour le dioxyde de chlore et (b) pour le couplage H_2O_2/UV lors de l'étude menée au CG38.....159

Tableau A.1 : Caractéristiques de l'eau du réseau de Savoie Technolac (Données Chambéry Métropole) 209

Tableau A.2 : Valeurs absolues initiales – finales et abattement selon les paramètres microbiologiques et le traitement appliqué.....212

Tableau A.3 : Caractéristiques de l'eau du réseau de Grenoble (Données Régie des Eaux de Grenoble) 214

GLOSSAIRE

A : appoint
ADN : acide désoxyribonucléique
AHA : acides haloacétiques
AMP : acide nitrilométhylènetriphosphonique
AMS : acide méthanesulfonique
ANOVA : analyse de variance
ARN : acide ribonucléique
ATMD : N-akyl-1,3-propanediamine
BCDMH : 3-bromo-1-chloro-5,5-diméthylhydantoïne
BIT : benzisothiazolone
CADBA : N-alkyldiméthylbenzylammonium
CDDA : chlorure didécyldiméthylammonium
CG38 : Conseil général de l'Isère
CMIT : 5-chloro-N-méthylisothiazolone
COA : carbone organique assimilable
COD : carbone organique dissous
CODB : carbone organique dissous biodégradable
COT : carbone organique total
COV : composés organiques volatils
CT : carbone total
DAPI : 4',6-diaminodo2-phénylindole
DBDMH : 2,4-dibromo-5,5-diméthylhydantoïne
DBNPA : 2,2 dibromo-3-nitrilopropionamide
DBO_5 : demande biochimique en oxygène à 5 jours
DCO : demande chimique en oxygène
E : évaporation
E_V : entraînement vésiculaire
GF : groupe froid
HEDP : acide 1,hydroxyethylidene,1-1-diphosphonique
LD : limite de détection
MIT : N-méthylisothiazolone
MO : matière organique
MON : matière organique naturelle
NFU : nephelometric formazine unit
P : purge
P_D : purge de déconcentration
PHMB : biguanide polyhexaméthylène
POA : procédé d'oxydation avancée

PCR : polymerase chain reaction
P_T : purge totale
R_C : facteur de concentration
ROS : dérivés réactifs de l'oxygène (reactive oxygen species)
SOD : enzyme superoxyde dismutase
TA : titre alcalimétrique
TAC : titre alcalimétrique complet
TAR : tour aéroréfrigérante
TH : titre hydrotimétrique
THM : trihalométhanes
Ufc : unités formant colonie
US : ultrasons
UV : ultraviolets
VBNC : viable mais non cultivable

INTRODUCTION

Les eaux de refroidissement sont largement utilisées dans la plupart des industries notamment les centrales électriques pour la condensation de la vapeur, l'industrie chimique pour le refroidissement de procédés donnant lieu à des réactions exothermiques, mais également les systèmes de climatisation. Ces utilisations représentent des quantités d'eau extrêmement importantes puisque les prélèvements en France sont estimés à 19,1 Mds de mètre-cubes par an, soit 57% du volume total prélevé dans les ressources naturelles. Ils ont la particularité d'être effectués à 99,9% en eaux superficielles, restitués à 93% dans le milieu récepteur (Institut français de l'environnement, 2006).

La dissipation de la chaleur par les divers procédés de refroidissement est assurée principalement par des tours aéroréfrigérantes (TAR). Le principe d'échange, dans les TAR dites humides, est basé sur l'évaporation de l'eau pulvérisée sur un garnissage au contact d'un flux d'air ambiant. Tandis que l'eau refroidie est récupérée dans un bassin avant d'être envoyée de nouveau vers le circuit à refroidir ; l'air est évacué en tête de tour (Annexe A). Celui-ci peut être chargé de gouttelettes et de vapeur d'eau, parfois visibles sous la forme d'un panache au-dessus de la tour, pouvant transporter des microorganismes pathogènes, comme les légionelles.

Les légionelles sont des bactéries présentes à l'état naturel dans les eaux douces (lacs et rivières) et les sols humides. Il existe au moins 50 espèces différentes, qui ne sont pas toutes pathogènes. *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 est responsable de 90% des cas de légionellose, une infection respiratoire pouvant prendre la forme d'une pneumopathie sévère mortelle dans 10 à 20% des cas (Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement, 2001). En France, le nombre de cas de légionellose augmentait de manière importante depuis 1996. Mais, en 2004, la mise en place par les autorités gouvernementales d'un plan de prévention des légionelloses a conduit à une diminution de 21% du nombre de cas déclarés entre 2005 et 2009 (Figure 1). Après une augmentation en 2010 – non expliquée à l'heure actuelle (Campèse et al., 2011) – l'année 2011 montre à nouveau un nombre de cas plus faible qu'en 2009. Cependant, il n'en reste pas moins 1 170 cas déclarés dont 114 ont entraîné le décès des patients.

Les tours aéroréfrigérantes sont régulièrement mises en cause lors d'épidémie de légionellose. Ainsi depuis 2004, ces systèmes sont soumis à une réglementation renforcée en étant inscrits dans les installations classées pour la protection de l'environnement (ICPE) et doivent faire l'objet d'une autorisation ou d'une déclaration selon la puissance thermique maximale évacuée (Décret n 2004-1331 du 1er décembre 2004). L'arrêté du 13 décembre 2004 – relatif aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air (Annexe B) – impose aux exploitants de maintenir en permanence une concentration en légionelles totales inférieure à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau (ufc.L^{-1}). Dans le cas d'un dépassement de 100 000 ufc.L^{-1}, l'installation de refroidissement devra être stoppée selon une procédure d'arrêt immédiat afin de la vidanger, de la nettoyer et de la désinfecter. Il incombe alors à l'exploitant de mettre en place un dispositif adapté pour maintenir les systèmes dans un « bon » état sanitaire pendant toute la durée de leur fonctionnement.

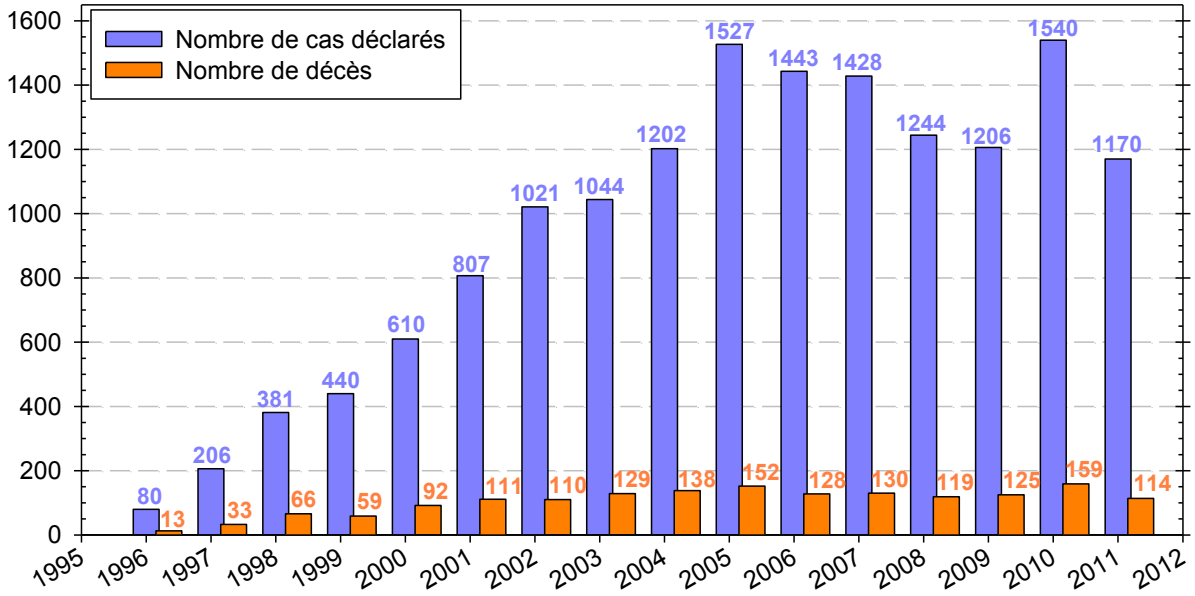


Figure 1 : Evolution du nombre de cas de légionellose en France (Source : Institut de Veille Sanitaire)

La maîtrise du risque d'infection par les légionelles constitue donc un enjeu de santé publique. Ces bactéries prolifèrent d'autant plus dans les tours aéroréfrigérantes humides qui leur offrent un environnement privilégié de développement compte tenu de la température de l'eau et du contact avec l'air. Les biofilms – consortiums bactériens attachés aux surfaces du système – sont également un milieu particulièrement bien adapté à la survie des légionelles. Les études à leur sujet s'avèrent d'ailleurs de plus en plus nombreuses et mettent en avant un mode de fonctionnement particulièrement complexe. Ils peuvent être à l'origine de pertes de performance dans les échanges de chaleur, mais sont surtout les principaux responsables du réensemencement du système car ils ne sont généralement pas touchés en totalité par les traitements de désinfection rencontrés habituellement sur les TAR. Ainsi, les biofilms offrent un abri à une multitude de microorganismes, dont les légionelles pathogènes. Les traitements de désinfection cherchent donc à être de plus en plus efficaces tant au niveau de l'eau circulante que des biofilms présents sur l'ensemble des parois du système. Le but ultime serait d'éradiquer entièrement ces communautés ; or il semble bien évidemment peu adéquat de vouloir obtenir un tel résultat car cela nécessiterait des taux de désinfection très importants. Limiter au maximum le développement des biofilms en ayant une bonne qualité de l'eau circulante – en accord avec la réglementation – semble par conséquent suffisant.

Il existe de nombreux traitements physiques, thermiques et chimiques pour éliminer les bactéries ou inhiber leur développement. Certains sont utilisés de manière préventive (maintien d'un faible résiduel dans l'eau) alors que d'autres sont plutôt employés sous forme de chocs (application d'une concentration élevée sur une courte période). Les traitements de désinfection les plus répandus sont les biocides oxydants et/ou non oxydants. Ils peuvent être toxiques et induisent bien souvent la formation de sous-produits pouvant être nocifs pour l'environnement. Les industriels sont par ailleurs constamment soumis à des normes de plus en plus drastiques, tant sur les désinfectants utilisés que sur les rejets (eaux de purge). Il est donc nécessaire d'étudier de nouveaux

traitements limitant ces impacts environnementaux, que ce soit via les produits chimiques utilisés ou les sous-produits formés, tout en conservant une bonne efficacité de désinfection.

L'objectif de ce travail est donc de proposer et d'évaluer un traitement de l'eau des TAR présentant des avantages à la fois en termes d'impact environnemental et d'efficacité de désinfection. Le traitement choisi consiste en l'application conjointe de peroxyde d'hydrogène et de rayonnements ultraviolets (UV). L'utilisation du peroxyde d'hydrogène présente deux avantages majeurs : sa décomposition en eau et oxygène conduisant à ne pas rejeter de produits toxiques et son caractère bactéricide. Cependant, les quantités nécessaires à la désinfection par l'utilisation seule de ce produit sont très importantes (> 100 $mg.L^{-1}$) (Labas et al., 2008). Cet oxydant sera ainsi utilisé davantage pour des traitements chocs à très fortes concentrations (200 à 1000 $mg.L^{-1}$) en présence d'un agent d'activation comme les ions argent ou l'acide peracétique. Quant aux UV, ils présentent une action germicide reconnue (UV-C). Leur action stérilisante est due à la perturbation apportée par les radiations ultraviolettes dans la structure chimique des constituants de la cellule vivante, et par suite, de leur fonctionnement. Ainsi, tous les germes (virus, bactéries y compris *Legionella* et *Cryptosporidium*, algues, levures, moisissures...) sont inactivés et ne peuvent pas se reproduire. Ce traitement physique de décontamination de l'eau présente un avantage très intéressant car aucun agent chimique n'est ajouté et aucun sous-produit de réaction n'est généré avec la matière organique de l'eau. L'inconvénient majeur de ce traitement est qu'il n'a pas d'effet rémanent. L'emploi de la désinfection par les UV est donc réservé à la désinfection d'eaux pour lesquelles les circuits sont courts et bien entretenus. L'utilisation du couplage H_2O_2/UV permettra ainsi de compléter l'action germicide de l'irradiation ultraviolette par génération de radicaux hydroxyles $^{\bullet}OH$ extrêmement réactifs qui pourront jouer un rôle supplémentaire dans l'inactivation des microorganismes mais aussi sur l'élimination de la matière organique présente dans l'eau à traiter.

Ainsi, de part la complémentarité des deux techniques, l'application du couplage H_2O_2/UV au traitement des eaux des TAR permettra d'avoir une double action :

- une action préventive de désinfection de l'eau pour éliminer les microorganismes libres présents dans l'eau de recirculation des TAR par irradiation UV complétée par l'oxydation radicalaire,
- une action de fond pour limiter le développement du biofilm dans les réseaux via l'oxydation de la matière organique dissoute par les radicaux hydroxyles. La dégradation de la matière organique permettra de réduire les apports nutritionnels des bactéries et leur prolifération dans le réseau d'eau. De plus, le résiduel de peroxyde d'hydrogène dans le système permettra de maintenir une action bactériostatique du traitement (inconvénient de l'utilisation seule des UV-C).

Actuellement aucun traitement continu de l'eau des TAR n'est effectué par oxydation radicalaire. L'utilisation couplée du peroxyde d'hydrogène et des UV paraissant très prometteuse, il semble important d'acquérir de meilleures connaissances sur ce traitement afin de savoir s'il est effectivement efficace et applicable, et le cas échéant, d'en déterminer les conditions d'application. Ce travail se propose donc d'étudier le

couplage H_2O_2/UV dans un but d'application à la désinfection des eaux des circuits de refroidissement des tours aéroréfrigérantes. La stratégie d'étude de ce couplage choisie consiste à réaliser dans un premier temps des essais de laboratoire puis d'étendre l'application du traitement à une tour aéroréfrigérante.

Les travaux effectués sont présentés dans ce mémoire en s'articulant autour de quatre chapitres.

La première partie de cette recherche sera consacrée à une synthèse bibliographique qui présentera les traitements physiques et chimiques des tours aéroréfrigérantes afin d'examiner les performances – de manière exhaustive – des techniques de traitement des eaux de refroidissement conventionnelles mais aussi en voie de développement.

Le second chapitre présentera le pilote de laboratoire conçu et réalisé pour tester l'efficacité du couplage H_2O_2/UV sur la désinfection de l'eau et la destruction du biofilm. Il présentera également les méthodes expérimentales et d'analyses utilisées au cours de cette étude.

Au cours du troisième chapitre, l'application du couplage H_2O_2/UV sur le pilote de laboratoire permettra d'étudier l'évolution des biofilms sous l'effet des traitements, de définir les seuils à partir desquels le traitement est susceptible de détruire ou de favoriser les processus de reviviscence des biofilms, d'évaluer les modifications induites à la matière organique présente mais aussi aux produits de conditionnement des eaux. Ces différents travaux permettront ainsi de conclure quant à la faisabilité technologique du couplage H_2O_2/UV pour le traitement de l'eau des TAR.

Enfin, la quatrième et dernière partie de ce travail exposera la mise en œuvre de ce couplage sur une installation du secteur tertiaire. Son efficacité sera étudiée à travers son potentiel de désinfection et son effet sur les biofilms. Il permettra, en outre, de valider l'étude menée sur le pilote de laboratoire. De plus, le couplage H_2O_2/UV sera comparé à d'autres procédés d'oxydation (dioxyde de chlore, traitement choc à la DBNPA et isothiazolone).

CHAPITRE 1 : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Légionelles et biofilms

Les légionelles sont particulièrement présentes dans les tours aéroréfrigérantes car elles y trouvent des paramètres favorables à leur développement : température élevée, humidité, concentration importante en oxygène à l'interface air / eau, addition de nutriments. Elles sont également en étroite interaction avec les biofilms, où elles y trouvent des niches ce qui leur permet de survivre malgré un traitement de désinfection (Broadbent, 1993 ; Merchat, 2005). De tels consortiums bactériens conduisent alors à un ensemencement et donc une contamination continuels du système. Il est donc nécessaire de comprendre leur mode de fonctionnement.

I.1. Biofilms

Les biofilms associent des communautés microbiennes généralement très diversifiées (bactéries, protistes, algues, champignons), qui se « caractérisent par des cellules attachées à un substrat ou interface et entre elles, ancrées dans une matrice d'exopolymères qu'elles ont produites. Ils exposent un phénotype ancien en respect avec les taux de croissance et de transcription des gènes » (Donlan et Costerton, 2002). Leur stabilité est alors plus importante que celle des populations planctoniques – en suspension dans le liquide – (Costerton et al., 1987). Les biofilms sont donc une accumulation de microorganismes (organismes unicellulaires procaryotiques ou eucaryotiques), de substances polymériques extracellulaires (EPS ou exopolymères), de cations multivalents, de particules inorganiques, de matériel biogénique (débris) mais aussi de composés colloïdaux et dissous.

Les exopolymères (EPS) jouent un rôle très important dans les biofilms car ils déterminent l'intégrité structurale et fonctionnelle des agrégats microbiens. Ils permettent de donner cette dimension 3-D aux biofilms, sous la forme d'un « gel » hautement hydraté – jusqu'à 97% d'eau (Geesey, 1982 ; Zhang et al., 1998) – et chargé localement (principalement anionique dû à la présence d'acides uroniques (Sutherland, 2001)) où les microorganismes sont plus ou moins immobiles. Les EPS sont responsables de la cohésion entre les cellules et les autres composés particulaires, mais aussi de l'adhésion sur un substrat (Flemming et al., 2009). Ils sont constitués principalement de polyssacharides mais aussi de protéines, d'acides nucléiques, de lipides et de substances humiques (Wingender et al., 1999). Ils représentent entre 50 et 90% de la matière organique totale des biofilms (Christensen et Characklis, 1990).

La formation des biofilms est variable. Cependant un schéma général de développement a été reconnu : l'attachement initial sur une surface, suivi par la formation de micro-colonies, et finalement la maturation de ces colonies en biofilms, qui sont maintenues dans une forme stable grâce aux EPS (Figure 2).

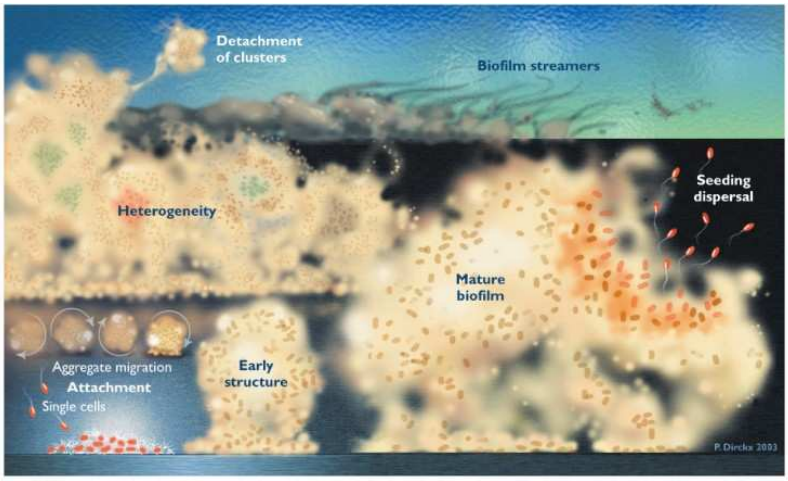


Figure 2 : Structure et vie dans un biofilm
(Peggy Dirkx, Center for Biofilm Engineering, Montana State University, Bozeman, MT)
(Flemming et al., 2009)

Les biofilms ont un mode de vie leur permettant (Costerton, 2007) :

- une biodiversité liée aux différents gradients observés créant ainsi différents habitats,
- un échange génétique facilité,
- une rétention d'enzymes extracellulaires,
- un accès à la matière particulaire biodégradable via la colonisation,
- un recyclage des nutriments car les cellules lysées sont retenues dans le biofilm,
- une protection contre les biocides et autres stress.

Les biofilms présentent une hétérogénéité dans leur structure et leur fonctionnement avec un réseau de pores et de canaux. Chaque biofilm est unique car sa formation est liée à l'environnement dans lequel il se développe (Branda et al., 2005 ; Flemming et al., 2009 ; O'Toole et al., 2000 ; Sutherland, 2001). Ainsi, les paramètres tels que le pH, la température et l'oxygène – entre autre – détermineront les espèces qui composeront ces consortiums bactériens. De plus, la présence de particules offrira une surface de développement supplémentaire aux biofilms. Par contre, une forte vitesse d'écoulement et des forces de cisaillement importantes détacheront plus facilement les biofilms (Bott, 1998 ; Viera et al., 1999), limitant leur développement et augmentant la quantité de microorganismes présents dans l'eau (Levi, 2001).

Dans les systèmes de refroidissement d'eau, les biofilms entraînent une augmentation de la résistance dans le transfert énergétique de chaleur, de la résistance de frottements, ou encore une accélération de la corrosion métallique. La performance d'un échangeur de chaleur peut alors diminuer significativement car le transfert de chaleur sera uniquement diffusionnel (Characklis, 1990), la convection étant limitée par la couche isolante formée par les biofilms.

Dans de nombreux cas, les biofilms résultent non seulement dans une accumulation non souhaitée de matériel biologique à la surface mais aussi de précipitation de minéraux (carbonate de calcium en particulier), constituant alors un mélange de dépôts biologiques et non biologiques qu'il est particulièrement difficile à éliminer.

I.2. Légionelles

Legionella est une bactérie aérobie Gram-négative d'origine hydrique, isolée dans les eaux de surface, les réseaux d'eaux chaudes et les systèmes de conditionnement d'air.

D'après la littérature, les légionelles peuvent résider dans pas moins de 20 espèces d'amibes (*Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Hartmannellid*), 2 espèces de protozoaires ciliés et une espèce de moisissure (Barbaree et al., 1986 ; Fields, 1996 ; Fields et al., 2002 ; Lau et Ashbolt, 2009 ; Rowbotham, 1980 ; Tyndall et Domingue, 1982 ; Wadowsky et al., 1988). Les biofilms peuvent également accueillir ces bactéries pathogènes et leur offrir des conditions de survie favorables, notamment si elles y trouvent les hôtes nécessaires à leur multiplication intracellulaire. Une fois ingérées par ces cellules hôtes, elles se protègent effectivement de l'action de digestion et de destruction mises en œuvre par les enzymes (Declerck et al., 2010 ; Greub et Raoult, 2003 ; Levi, 2001). Elles restent alors dans la cellule afin de s'y multiplier. Lorsque les concentrations en acides aminés deviennent trop faibles (limitation de leur réplication), elles forment alors un flagelle qui leur permet de s'échapper de la cellule hôte afin de chercher une nouvelle cellule à parasiter (Byrne et Swanson, 1998 ; Pruckler et al., 1995). Ainsi les amibes et autres protozoaires sont des réservoirs et des vecteurs de légionelles, mais aussi des amplificateurs du pouvoir infectieux bactérien. En effet, si les légionelles de la phase réplicative (période de multiplication) sont avirulentes et non flagellées, les légionelles de la phase transmissive (lyse de l'amibe et infection de nouveaux hôtes) sont virulentes, très mobiles et plus résistantes à des stress physiques ou chimiques (Cazalet et al., 2004).

Il s'avère par ailleurs que les tours aéroréfrigérantes sont un lieu propice à l'association entre amibes et légionelles. La probabilité d'y rencontrer des amibes infectées serait 16 fois plus importante que dans des environnements naturels (Berk et al., 2006 ; Broadbent, 1993). Ces systèmes augmentent ainsi la possibilité d'un développement de légionelles pathogènes avec ces cellules hôtes.

Cependant, bien que la relation entre *Legionella pneumophila* et les amibes ait été largement étudiée (Barbaree, 1991 ; Barker et al., 1992 ; Guerrieri et al., 2005 ; Molmeret et al., 2001), la démonstration de la nécessité d'envahir un hôte (amibes ou autres protistes) pour sa multiplication dans des biofilms de l'environnement n'est pas définitivement établie (Borella et al., 2005 ; Mampel et al., 2006). Malgré le problème de sa multiplication, cela ne l'empêche pas moins de persister dans le milieu, même dans les conditions difficiles des biofilms environnementaux, sous la forme d'un état viable mais non cultivable VBNC (Alleron et al., 2008 ; Desai et al., 1999 ; Moritz et al., 2010). Ainsi, aux yeux des analyses réglementaires, la bactérie peut ne pas être observée alors qu'elle est présente dans le système. Ces cellules VBNC présentent une faible activité métabolique (Alleron et al., 2008) mais ne se multiplient pas (Sardessai, 2005). Elles semblent correspondre un individu sacrifié dans le but de fournir des métabolites extracellulaires, et de coordonner et réguler l'activité de la communauté (Morton et al., 1998). Ces légionelles sont néanmoins capables de regagner leurs potentiels pathogènes et leurs états cultivables grâce à la réactivation aux sein des cellules hôtes (Steinert et al., 1997). Ainsi, *Legionella* peut subsister pendant de longues périodes dans les systèmes pour le réensemencer ensuite (Alleron et al., 2008 ; Murga et al., 2001).

I.3. Résistances aux traitements

Les biofilms présentent une population hétérogène, structurée et fixée ce qui rend les microorganismes beaucoup moins accessibles que ceux présents dans l'eau (Luppens et al., 2002). Regroupant un ensemble d'espèces, il existe alors des interactions entre microorganismes de même espèce et d'espèces différentes, synonyme d'une grande complexité (Sutherland, 2001). Ils peuvent d'ailleurs, par leur structure, développer différents niveaux de résistance face à un biocide (Mah et O'Toole, 2001). Par exemple, les cellules proches de l'interface biofilm / eau circulante seront partiellement protégées par la matrice des exopolysaccharides et par des enzymes qui inactivent certains agents microbiens. Les cellules dans des positions intermédiaires se développeront à un rythme plus lent, leur permettant de se protéger et pourront également l'être grâce à l'ensemble des cellules présentes dans la « couche extérieure » (Phull et al., 1997). D'autres sous-populations de cellules pourront exprimer un phénotype de résistance spécifique, induit par des facteurs environnementaux particuliers.

Les mécanismes exacts de résistance des biofilms dépendent principalement des biofilms, du biocide utilisé et des conditions environnementales (Schulte et al., 2005). Plusieurs modes d'interaction entre le biocide et les biofilms ont été mis en évidence :

- **Limitations liées à la diffusion / réaction des désinfectants au sein des biofilms :** Les biocides sont souvent des molécules hautement réactives pouvant réagir avec la matière organique : protéines, acides nucléiques. Ils vont alors pouvoir réagir avec les constituants du biofilm, modifiant ou altérant la perméabilité de la membrane cytoplasmique ou la paroi cellulaire (Brözel et Cloete, 1991, 1993) produisant des gradients de concentration et donc des zones avec de plus faibles concentrations en biocide (Stewart et al., 1998) et limitant aussi leur diffusion (Chen et Stewart, 1996 ; Costerton et al., 1987 ; De Beer et al., 1994 ; Stewart et al., 1998 ; Xu et al., 1996). Cette diffusion restreinte du désinfectant au sein du biofilm semble davantage liée à l'interaction entre le biocide et la matrice extracellulaire des biofilms (EPS) (Christensen et Characklis, 1990 ; Levi, 2001), que ce soit par réaction ou absorption, plutôt qu'à une interférence stérique (Guiot 2002, Habimara 2011, Bridier 2011).
- **Adaptations phénotypiques des cellules des biofilms :** La limitation de pénétration du biocide au sein des biofilms peut également être liée au développement de réponses adaptées des microorganismes aux concentrations sublétales (Bridier et al., 2011), comme c'est le cas avec la mise en place d'enzymes permettant d'inhiber un biocide (Fiorenza et Ward, 1997 ; Heinzel, 1988 ; Schulte, 2003). La présence d'un faible taux de croissance des biofilms leur permettra également d'effectuer les changements physiologiques nécessaires à leur implantation lors de leur formation. Ils seront alors plus résistants face aux stress environnementaux (traitements choc de température, changements de pH, présence de biocides) (Schulte et al., 2005). En effet, le mode de croissance des biofilms est montré comme un mécanisme important de résistance dans de nombreuses études (Lewis, 2001 ; Mah et O'Toole, 2001 ; McDonnell et Russell, 1999 ; Morton et al., 1998), résultant dans l'expression de gènes spécifiques en réponses aux conditions micro-environnementales qui lui sont directes (Bridier et al., 2011). Face à un stress

général, les biofilms peuvent aussi développer un phénotype spécifique au travers de l'activation de gènes (Schulte et al., 2005), et de mutations génétiques (Boles et Singh, 2008 ; Hall, 1990 ; Mai-Prochnow et al., 2008), résultant en l'émergence de sous-populations plus résistantes. Une population entière peut alors s'adapter à des conditions défavorables (Boles et al., 2004).

- **Cellules persistantes (« persisters ») :** Il existe aussi une catégorie de cellules, dénommées « cellules persistantes ». Il s'agit de cellules qui survivent et sont préservées grâce à la présence d'un agent antimicrobien qui inhibe leur croissance. Ce phénomène a pu être mis en avant par l'observation d'une absence d'efficacité supplémentaire d'un agent antimicrobien malgré l'augmentation de sa concentration (Lewis, 2001). Ces « persisters » ne sont pas des cellules mutantes et ne représentent pas un état particulier dans le cycle cellulaire. Elles seraient le résultat d'un mécanisme de sécurité, qui permettrait de produire des cellules capables de survivre si l'ensemble de la population est atteinte par le traitement (Lewis, 2001).

Plus particulièrement, les légionelles – grâce à leur association avec des cellules hôtes – présentent également une résistance face aux désinfectants employés. En effet, les protozoaires développent des résistances face à des conditions environnementales stressantes (température, biocides…) : ils entrent alors en phase de kystes dormants afin de limiter les effets néfastes auxquels ils font face, tout en conservant leur viabilité et leur virulence (Coulon et al., 2010 ; Mazur et al., 1995 ; Sriram et al., 2008). Les légionelles se retrouvent alors encapsulées dans ces hôtes, protégées des conditions extérieures (Kilvington et Price, 1990 ; Storey et al., 2004). Elles peuvent recoloniser le milieu par la suite, lorsque les conditions redeviennent supportables, comme après une désinfection (Thomas et al., 2004). De plus, les légionelles – bactéries Gram-négatives – présentent une membrane extérieure supplémentaire, constituée de lipopolysaccharides, que les bactéries Gram-positives n'ont pas. Grâce à cette différence morphologique, elles présenteront une résistance un peu plus importante vis-à-vis de certains biocides (Morton et al., 1998).

II. Solutions actuelles de traitement des TAR

La maîtrise du risque d'infection par les légionelles constitue donc un enjeu de santé publique. Le biofilm offre un milieu particulièrement bien adapté à la survie des légionelles, où elles y trouvent à la fois une microflore qui favorise leur croissance et une protection contre certains traitements. Seul un traitement permettant de réduire les biofilms et leur reviviscence garantit la maîtrise de ce risque. La formation des dépôts biologiques peut ainsi être limitée par un traitement de désinfection qui est souvent associé aux traitements antitartre et anticorrosion. L'efficacité et la qualité de la désinfection dépend bien sûr du choix du biocide mais aussi des paramètres spécifiques à chaque installation comme (Merchat, 2006) :

- l'état de propreté de l'installation et notamment l'état des surfaces du circuit. L'entartrage et la corrosion d'un circuit sont des facteurs de risque car les dépôts minéraux permettent l'accrochage et le développement du biofilm.
- de la qualité de l'eau (teneur en MES, teneur en matière organique, pH…). Les matières en suspension dans l'eau peuvent protéger les bactéries de l'action du

désinfectant et empêcher celui-ci d'agir. Les matières organiques, quant à elles, réagissent avec le biocide oxydant et réduisent la concentration résiduelle nécessaire à la désinfection.

- des microorganismes présents. Les différents types de bactéries et pour une même espèce, les différentes « formes physiologiques », n'ont pas la même sensibilité aux désinfectants. Les légionelles à l'état libre sont ainsi plus sensibles que les légionelles ayant eu un développement intracellulaire (dans une amibe, un protozoaire).
- du temps de contact entre le microorganisme et le produit chimique. L'activité désinfectante est fonction de la concentration résiduelle C du biocide dans le circuit et du temps de contact t entre la molécule et les microorganismes considérés. La notion de Ct permet de comparer l'efficacité de plusieurs biocides pour des conditions expérimentales définies (pH, température, qualité de l'eau taux de concentration, TH, type de microorganismes).

Il existe de nombreux traitements physiques, thermiques et chimiques pour détruire les bactéries ou inhiber leur développement. L'objectif de cette partie est de faire une synthèse de manière exhaustive des techniques conventionnelles et en voie de développement. L'éradication complète n'est pas recherchée car inutile et coûteuse. Il s'agit seulement de maîtriser cette vie microbienne, afin d'éviter la présence de légionelles et de limiter le développement de biofilms dans le système. Selon les techniques, certaines seront utilisées comme des traitements préventifs (faible résiduel maintenu dans l'eau) alors que d'autres seront plutôt employées pour des traitements chocs (concentration élevée pendant une courte période).

II.1. Traitements physiques

Les traitements physiques consistent en un apport d'énergie par voie thermique, mécanique ou électrique afin d'agir sur les contaminants de l'eau (polluants chimiques ou microorganismes). Les principaux procédés utilisés pour la désinfection de l'eau sont les traitements thermiques, les traitements par irradiation UV ou par les ultrasons. Leur action ne nécessite aucun réactif chimique, présentant alors l'avantage de n'avoir aucune incidence sur le milieu environnemental. Cependant, un apport d'énergie important est nécessaire et exige un compromis entre l'efficacité souhaitée et le coût énergétique. L'ensemble des avantages et inconvénients propres à chaque procédé sera détaillé dans les parties correspondantes.

II.1.1. Traitement thermique

Le traitement thermique est probablement le traitement le plus ancien dans la désinfection de l'eau. Il consiste à porter l'eau à une température suffisante pour détruire tous les microorganismes. De nombreuses études montrent l'influence de la température sur le développement de *Legionella*. Ces dernières prolifèrent lorsque la température de l'eau est comprise entre 25 et 42°C. En dessous de 25°C, elles survivent mais sont détruites en quelques heures vers 5°C. Au delà de 42°C, elles survivent et sont détruites en quelques minutes vers 60°C (Fields et al., 2002 ; Leteneur, 2003 ; Lin et al., 1998 ; Muraca et al., 1987 ; Rogers et al., 1994) (Figure 3).

L'ensemble de ces études s'accorde pour définir une température minimale à appliquer de 60°C afin d'obtenir une désinfection thermique efficace. Ce seuil de température permet de détruire toutes les légionelles aussi bien sous forme de culture pure (Sanden et al., 1989) que de suspension dans une eau non chlorée. Barbaree (1991) précise d'ailleurs qu'à 55°C, 90% des *Legionella pneumophila* sont éradiquées en 27 minutes alors que seulement 2,7 minutes sont nécessaires à 60°C. De tels résultats sont également obtenus dans le cas de systèmes d'eau chaude sanitaire (hôpitaux principalement) et de systèmes modèles d'eau circulante (Muraca et al., 1987 ; Rogers et al., 1994).

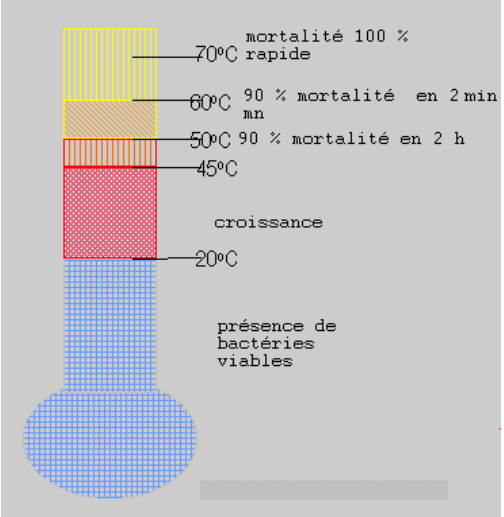


Figure 3 : Effet de la température sur le développement de Legionella (Brundrett, 2003)

Malgré la simplicité apparente de ce traitement, celui-ci présente des inconvénients liés à l'écoulement de l'eau. En effet, la présence de bras morts ou de segments à faibles circulation d'eau amène l'eau à une température inférieure à 50°C permettant ainsi le développement de *Legionella pneumophila* (Blanc et al., 2005). Il a été récemment mis en évidence la thermo-acclimatation de *Legionella*, plutôt qu'une thermo-résistance. En effet, suite à deux traitements thermiques de 30 minutes à 70°C, l'abattement des légionelles obtenu lors du premier choc ne s'avère que transitoire, tandis que le second ne montre pas d'efficacité particulière (Farhat et al., 2009).

Bien que communément utilisée dans les systèmes de distribution d'eau chaude sanitaire, cette méthode est peu pratiquée pour les systèmes de refroidissement. Elle est parfois utilisée en traitement choc, en portant le réseau à une température supérieure à 60°C. Cependant, une étude (bien qu'axée « eau chaude sanitaire ») ne montre aucun effet d'un choc thermique à 70°C pendant 30 minutes sur les bactéries totales présentes dans l'eau et les biofilms. Seules les bactéries hétérotrophes (eau et biofilms) diminuent mais atteignent rapidement (en 48 heures) leur niveau de départ à cause du manque de rémanence du traitement (Farhat et al., 2009). L'utilisation d'un tel traitement sur une TAR semble donc limitée ; d'autant plus que les matériaux présents dans le réseau doivent pouvoir supporter une telle température.

D'autres auteurs préconisent au contraire de maintenir la température du bassin suffisamment basse pour limiter la concentration en *Legionella*. Une étude statistique

menée en Australie sur 65 tours aéroréfrigérantes a permis de montrer qu'en dessous de la température critique de 16,5°C dans le bassin, la concentration en légionelles n'augmente pas. Par contre au delà de 23°C, la multiplication des légionelles est explosive (Broadbent, 1993) (Figure 4).

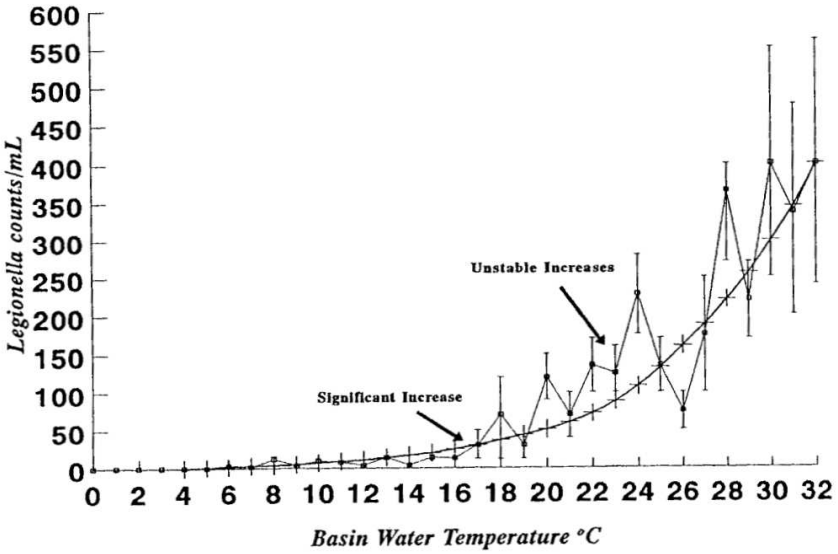


Figure 4 : Effet de la température de l'eau du bassin sur la concentration moyenne en légionelles (25 tours) (Broadbent, 1993)

Ces résultats sont confirmés par une étude finlandaise, montrant qu'un abaissement de la température en dessous de 20°C diminue la concentration en légionelles (Kusnetsov et al., 1997). Celle-ci reste inférieure à 1 000 ufc.L^{-1} (seuil à ne pas dépasser selon la réglementation française) sur deux années de fonctionnement sans traitements supplémentaires. L'ajout d'un biocide dans le circuit permet de diminuer la concentration en légionelles en dessous de la limite de détection. Cependant, ces auteurs observent que cet abaissement de température ne permet pas de diminuer la concentration des bactéries hétérotrophes. Cette méthode augmenterait aussi probablement les coûts d'opération du système tout en présentant l'avantage d'offrir une solution permanente dans le contrôle de la croissance des légionelles.

II.1.2. Ultraviolets

i. Principe

Les radiations UV sont des ondes électromagnétiques de longueurs d'onde comprises entre 200 et 400 nm. Cette gamme de longueurs d'onde est divisée en 3 domaines :

- les UV-A : de 315 à 400 nm,
- les UV-B : de 280 à 320 nm,
- les UV-C : de 200 à 280 nm.

La dégradation photochimique de composés organiques par ces radiations est un processus naturel important de décontamination dans l'environnement. L'irradiation d'une molécule dans la gamme de longueurs d'onde de son spectre d'absorption provoque le transfert d'un électron de la plus haute orbitale moléculaire occupée vers la plus basse orbitale moléculaire vacante. L'énergie fournie par la radiation UV est suffisamment

élevée pour provoquer diverses transitions électroniques [1] ou rompre des liaisons chimiques [2] (Stefan, 2004) :

$$RX + h\nu \rightarrow RX^* \quad [1]$$

$$RX^* \rightarrow (R^{\bullet} \ldots {}^{\bullet}X)_{cage} \rightarrow R^{\bullet} + {}^{\bullet}X \quad [2]$$

$$(R^{\bullet} \ldots {}^{\bullet}X)_{cage} \rightarrow RX \quad [3]$$

$$RX^* \rightarrow (R^+ \ldots X^-)_{cage} \rightarrow R^+ + X^- \quad [4]$$

$$RX^* + O_2 \rightarrow RX^{+\bullet} + O_2^{-\bullet} \quad [5]$$

$$RX^* + {}^3O_2 \rightarrow RX + {}^1O_2 \quad [6]$$

La principale réaction est la coupure de la liaison homolytique [2] conduisant à la formation des radicaux. Ces derniers peuvent alors subir plusieurs réactions d'oxydation et de réduction selon leur structure. Les radicaux primaires peuvent également se recombiner entre eux, redonnant alors la molécule mère [3], expliquant des baisses de rendements observables lors de la photolyse.

Les processus de transferts d'énergie et d'électron par l'oxygène ([5] et [6]) sont également possibles. Ils nécessitent un état excité relativement long, comme c'est le cas dans son état triplet (${}^3O_2$). Pour un polluant organique, l'oxygène dissous est le partenaire principal de réaction, conduisant à des espèces très réactives : radicaux superoxydes ($O_2^{-\bullet}$) et oxygène à l'état singulet (${}^1O_2$).

ii. Ultraviolets et microorganismes

Les UV-C sont les ondes les plus intéressantes pour leur application dans le traitement de l'eau. En effet, de nombreux polluants et constituants de l'eau (composés organiques et inorganiques dissous) absorbent ces radiations. Ce type de radiation UV est connu pour ses effets sur les microorganismes et ses effets biocides (Haas, 1990). Lors d'une désinfection par les UV, les radiations sont absorbées par les acides nucléiques (ARN et ADN) des cellules bactériennes entraînant la formation de dimères pyrimidiques ainsi que de nombreux photo-produits (Cloete et al., 1998). Les modifications photochimiques des acides nucléiques ainsi que les dimères thymine produits vont entraîner une inhibition de la réplication et de la transcription de l'ADN, empêchant ainsi la cellule de se multiplier (Franzin et al., 2002 ; Liu et al., 1995 ; Oppezzo et Pizarro, 2001 ; von Sonntag et al., 2004).

En général, les traitements sont effectués avec des lampes basse pression à vapeur de mercure dites « germicides ». Elles possèdent un spectre d'émission de radiation UV-C, en émettant pour plus de 90% à 253,7 nm, longueur d'onde qui présente un important chevauchement avec le pic d'absorption de l'ADN (Jagger, 1967).

La vitesse d'inactivation des microorganismes par les UV peut être décrite selon le modèle du premier ordre de Chick et Watson (1908). Ce modèle correspond à une loi cinétique du premier ordre s'exprimant ainsi [7] :

$$\log_{10}\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -k.Dose \quad [7]$$

avec N_0 : nombre de microorganismes initialement présent dans l'eau

N_t : nombre de microorganismes après un temps d'exposition t

k : constante de vitesse apparente de la réaction qui dépend notamment de la létalité des microorganismes dans les conditions opératoires de mise en œuvre (pH, force ionique, température)

$Dose$: flux photonique exprimé en mJ.cm^{-2} reçu sur un temps d'exposition t

Les travaux publiés dans la littérature indiquent cependant deux déviations principales à cette cinétique du premier ordre. Certains auteurs (Hoyer, 1998 ; Knudson, 1985 ; Mamane-Gravetz et Linden, 2005 ; Sommer et al., 1998) montrent la nécessité d'une dose minimale d'UV afin d'observer l'inactivation des bactéries. Au delà de cette valeur seuil, l'inactivation des bactéries suit la relation logarithmique linéaire. Cette première déviation est prise en compte dans la loi cinétique par un terme constant b selon [8] :

$$\log_{10}\left(\frac{N_t}{N_0}\right) = -k.Dose - b \qquad [8]$$

où b : valeur seuil à partir de laquelle un début de létalité des microorganismes est observé (intersection avec l'axe des ordonnées)

La seconde différence avec cette cinétique linéaire est l'absence d'une augmentation supplémentaire de l'inactivation des bactéries malgré de fortes doses appliquées. Cette déviation est nommée « tailing ». Elle est exclue du calcul de la constante k, en omettant les données d'inactivation obtenues pour ces fortes doses de radiation UV (Hijnen et al., 2006).

Pour le traitement de désinfection de l'eau de consommation, les doses classiques d'UV utilisées sont de l'ordre de 40 mJ.cm^{-2} permettant d'atteindre une inactivation de 2-log pour la plupart des bactéries, virus, protozoaires et phages (Masschelein, 2002 ; Xie, 2004). *Legionella,* quant à elle, est plus sensible aux irradiations UV que d'autres bactéries hétérotrophes (Knudson, 1985). A l'échelle laboratoire, une réduction en *Legionella pneumophila* de 1 à 3-log a pu être obtenue avec des doses UV de 2,0 à 6,2 mJ.cm^{-2} (Antopol et Ellner, 1979 ; Makino et al., 1983 ; Yamamoto et al., 1987). Cependant, de nombreux paramètres influencent l'efficacité de la désinfection par les ultraviolets :

- ***les caractéristiques du procédé et du réacteur UV*** : la distribution de la dose UV liée à la distribution du temps de séjour hydraulique, la réflexion et la réfraction de la lumière UV au travers de l'eau, l'intensité de la lampe (vieillissement, encrassement) (Hijnen et al., 2006).
- ***les paramètres physico-chimiques de l'eau***. Certains paramètres vont avoir peu d'influence comme la température, le pH (Muraca et al., 1987 ; Severin et al., 1983) ; d'autres vont au contraire influencer l'efficacité. C'est le cas notamment de la turbidité et de la teneur en matière organique modifiant la transparence de l'eau en réfléchissant ou en absorbant les UV. Dans ce cas, les doses UV devront être corrigées par la valeur de la transmittance de l'eau à 254 nm en la prenant en compte dans le calcul des flux UV (Hijnen et al., 2006).
  Cependant, les travaux publiés dans la littérature avancent des résultats contradictoires quant à l'influence de la turbidité sur l'inactivation des microorganismes. Tandis que certaines études montrent une augmentation de la

résistance des microorganismes en présence de particules, comme c'est le cas pour des coliformes thermotolérants (Qualls et al., 1983) et des *Enterococci* (Havelaar et al., 1987), étudiés sur des effluents urbains ; d'autres, au contraire, ne montrent pas d'effets de la turbidité sur l'efficacité des UV. Par exemple, aucune différence dans l'inactivation des *Poliovirus* et des phages MS2 n'est observée pour des turbidités de 0,2 et 2,5 NTU, avec une transmission UV à 254 nm de 40 à 68 %, et des doses UV de 0 à 100 $mJ.cm^{-2}$ (Water Care Services Ltd, 2002). Cette dernière observation est confirmée par l'étude de Muraca et al. (1987) : aucune différence d'inactivation de *Legionella pneumophila*, dans un système de circulation d'eau du robinet, soumis à une dose UV de 30 $mJ.cm^{-2}$ à 254 nm, n'a été observée entre une eau non turbide et une eau présentant une concentration en particules solides de 4 à 5 $mg.L^{-1}$.

L'adhésion de débris à la surface des lampes UV entraîne tout de même une diminution de l'efficacité des UV (Kusnetsov et al., 1994 ; Yamamoto et al., 1991) : une filtration de l'eau ou l'utilisation de matériaux à plus faible adhésion, tel que le fluoropolymère en remplacement du quartz sont ainsi recommandées (Farr et al., 1988). D'une manière générale, l'efficacité de l'inactivation des microorganismes par les UV semble plus sensible à un changement de lampes qu'à un changement de la transmittance de l'eau (Schoenen et al., 1995 ; Sommer et al., 1997).

Il faut noter que le traitement UV utilisé seul aura très peu d'impacts sur les constituants organiques de l'eau brute. Aucune réduction significative du carbone organique total (COT) et de l'absorbance UV à 254 nm n'est remarquée avec une dose maximale d'UV de 1,6 $J.cm^{-2}$ (Chin et Bérubé, 2005).

- ***les microorganismes***. Ils peuvent affecter l'efficacité de la désinfection UV selon :
    - leur état physiologique (pré-culture, phase de croissance). La plus forte sensibilité des bactéries se trouve dans la phase de croissance active alors que la plus faible serait dans la phase stationnaire (Malley et al., 2004 ; Mofidi et al., 2002).
    - la diversité des souches (Hijnen et al., 2006). Sommer et al. (1998) et Malley et al. (2004) ont montré une sensibilité aux UV de différentes souches de *Escherichia coli* variant d'un facteur de 3,7 à 5,8.
    - leur sensibilité à l'irradiation et la dose UV utilisée, influencées par l'intensité de la lampe et la transparence de l'eau (Jepson, 1973).

A l'issue du traitement par irradiation UV, certains microorganismes peuvent conserver des fonctions métaboliques, telles que l'activité enzymatique, et ce, malgré l'endommagement par les UV de certains composés de la cellule. Ils peuvent aussi présenter quelques résistances à l'attaque des UV sur des temps d'inactivation longs (Emerick et Darby, 1993) et développent ainsi des mécanismes afin de réparer les lésions du génome induites (Friedberg et al., 1995 ; Harm, 1980). Deux types de réparation (von Sonntag et al., 2004) peuvent être mis en place :

- ***la photoréactivation***. Il s'agit d'un mécanisme de réparation de l'ADN se produisant dans des conditions d'exposition prolongée à la lumière : les microorganismes inactivés par le traitement regagnent leur activité via la photo-

réparation des dimères pyrimidiques en utilisant l'énergie des UV proches de la lumière visible (310-400 nm) et une enzyme spécifique : la photolyase. Les UV-A peuvent ainsi être à l'origine de « la photoréactivation concomitante » puisque la lumière va provoquer des effets létaux et une réparation simultanément (Jagger, 1981). Ainsi, ce mécanisme peut affecter l'efficacité de la désinfection UV aussitôt après le traitement.

Il semblerait que ce mécanisme dépende davantage du temps d'exposition à la lumière photoréactivante plutôt que de son intensité, car le facteur limitant cette réparation est la fréquence de production de la photolyase pouvant s'attacher aux dimères (Harm, 1980). La plupart des phénomènes de photoréactivation sont observés pour de faibles doses UV et des conditions optimales d'exposition à la lumière (fine couche de fluide) qui favorisent ce mécanisme de réparation. Sous de telles conditions, les résultats montrent la nécessité d'utiliser des doses UV plus importantes afin d'obtenir une inactivation similaire à celle observée sans phénomène de photoréactivation (Oguma et al., 2004). Dans une étude portant sur *Escherichia coli*, Bernhardt (1994) observe une diminution de la valeur de la constante de vitesse k et une augmentation de l'offset (constante b de l'équation de la cinétique d'inactivation [8]). Afin d'atteindre 4-log d'inactivation, l'auteur doit employer une dose UV 1,4 à 4,2 fois plus importante, lui permettant d'éliminer totalement ce phénomène de photoréactivation. *Legionella pneumophila* est également susceptible de réaliser ce mécanisme de réparation (Knudson, 1985). Une étude montre, d'ailleurs, la nécessité d'une dose UV 2,8 à 4,6 plus importante afin d'obtenir une inactivation de 1 à 3 log (Knudson, 1985).

Ainsi, afin de compenser ce risque, il est recommandé d'utiliser un système à forte intensité UV ou une combinaison des UV avec une autre méthode de désinfection surtout lorsque l'eau se retrouve exposée à la lumière (Oguma et al., 2004) comme cela peut être le cas dans les TAR.

- ***la réparation 'thermique'*** (dark repair). Ce phénomène, quant à lui, ne nécessite pas de lumière. Il existe chez la plupart des bactéries. Même si les spores et les virus ne possèdent pas de métabolisme, les empêchant de pouvoir réparer eux-mêmes les dommages causés à leur génome. Cette réparation commence avec la germination chez les spores, ou l'utilisation d'enzymes de réparations de cellules hôtes chez les virus. Certains d'entre eux apporteraient même les gènes nécessaires aux enzymes réparatrices (Lytle, 1971). Cependant, les virus transmis par l'eau ne possèdent pas cette capacité (Hijnen et al., 2006). Il semblerait que chez *Escherichia coli*, ce mécanisme soit moins important que le phénomène de photoréactivation (Sommer et al., 2000 ; Zimmer et Slawson, 2002).

iii. Application des ultraviolets au traitement de désinfection des eaux

L'irradiation UV est un procédé qui a montré son efficacité vis-à-vis de la désinfection. Il présente plusieurs avantages :

- une installation facile et de faibles coûts (Franzin et al., 2002),

- une haute sécurité d'opération (Cloete et al., 1998),
- pas d'effets indésirables sur l'eau ou le système de tuyauterie,
- une absence d'effets secondaires indésirables usuellement trouvés dans les traitements chimiques classiques, tels que la génération de sous-produits (Franzin et al., 2002).

Le principal inconvénient rencontré par l'irradiation UV est l'absence de résiduel (Cloete et al., 1998 ; Franzin et al., 2002 ; Kim et al., 2002). Plusieurs conséquences en découlent :

- pas de protection durable : une étude sur les TAR utilisant ce procédé montre une concentration constante en bactéries dans le réservoir d'eau durant les 33 jours d'expérience (Kusnetsov et al., 1994). Les biofilms ne sont pas soumis aux UV, restant ainsi intacts dans le système, et pouvant le réensemencer.
- une nouvelle croissance des bactéries suite au traitement (van der Wende et Characklis, 1990) : la désinfection n'est ainsi pas maintenue.

Afin de maintenir la qualité bactériologique, l'eau devra régulièrement être mise en contact avec les UV par recirculation. Pour de petits systèmes de circulation d'eau (volume d'eau de 6 à 100 litres) avec des débits de 144 à 500 $L.h^{-1}$, l'irradiation UV est efficace pour l'élimination de *Legionella* (Gilpin et al., 1985 ; Muraca et al., 1987 ; Yamayoshi et Tatsumi, 1990). Pour des systèmes de refroidissement de circulation plus importants (10-30 m^3) avec des débits de 2000-2500 $L.h^{-1}$, l'irradiation UV réduit considérablement le nombre de légionelles (90-99%) mais n'inhibe pas totalement la croissance ultérieure de cette bactérie (Yamamoto et al., 1991). La présence de protozoaires – pouvant abriter les légionelles – peut être la cause de cette absence d'éradication totale car ces espèces nécessitent des intensités d'irradiation plus importantes (Hijnen et al., 2006 ; Maya et al., 2003). Le même constat est réalisé sur l'étude de Kusnetsov (1994) avec un volume de 27 m^3 d'eau mais un débit plus faible (970 $L.h^{-1}$). L'irradiation UV conduit alors à l'élimination de 90-100% des légionelles pour une dose UV de 19 à 28 $mJ.cm^{-2}$. Malgré tout, la concentration en bactéries totales dans le réservoir d'eau reste constante. Les biofilms présents sur les parois du système et dans les sédiments du réservoir seraient responsables de cette observation. En effet, ils ne sont pas soumis aux UV et peuvent ainsi recontaminer le système. La réactivation des bactéries hétérotrophes est également possible.

II.1.3. Ultrasons

i. Principe

Les ultrasons (US) sont des ondes vibratoires de fréquences comprises entre 16 kHz et 100 MHz engendrant une cavitation acoustique à l'origine d'effets mécaniques et chimiques agissant sur le milieu. Leur propagation au sein d'un liquide provoque alternativement des compressions et des dépressions sur les molécules. Lorsque la dépression est suffisamment élevée pour vaincre les forces attractives entre les molécules présentes dans le liquide, des bulles de cavitation naissent (Lorimer et Mason, 1987). Celles-ci grandissent au fur et à mesure des cycles compression / dépression par un transfert de gaz ou de vapeur du liquide jusqu'à atteindre un équilibre pour une fréquence donnée (coalescence puis dégazage) ou jusqu'à imploser : une énergie

provoquant des effets mécaniques et chimiques est alors générée (Figure 5). Habituellement, l'implosion des bulles de cavitation est observée lorsque la puissance ultrasonore est suffisamment élevée ($P > 10$ W.cm^{-2}) (Lorimer et Mason, 1987). Elle agit alors comme un point chaud localisé avec des températures d'environ 4000 K et des pressions supérieures à 1000 atmosphères (Suslick, 1990).

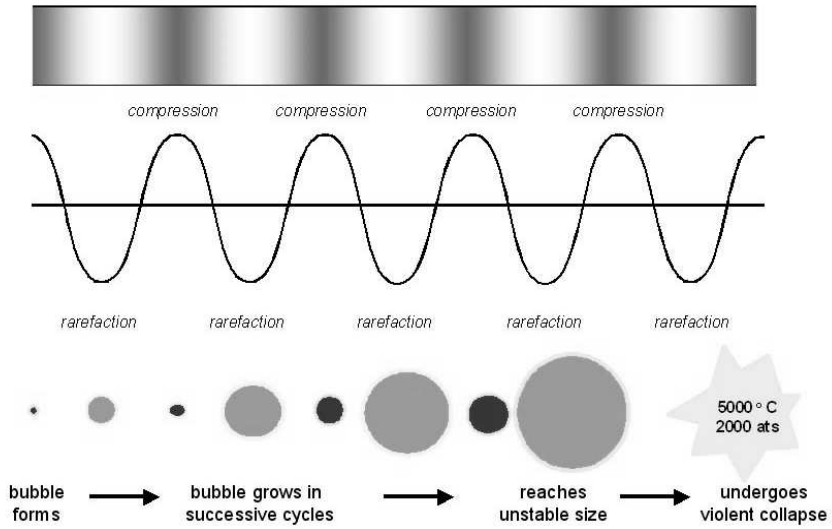


Figure 5 : Génération acoustique d'une bulle de cavitation par les ultrasons (Mason et Pétrier, 2004)

Les phénomènes mis en jeu lors de la création et l'évolution des bulles de cavitation sont complexes en raison de la diversité des facteurs qui interviennent : fréquence, puissance, solvant, température, pression extérieure, et présence de gaz dans la bulle. Leurs principaux effets sont de types mécanique et/ou chimique :

- L'effet mécanique se manifeste lors de l'implosion des bulles de cavitation qui provoquent des micro-jets, des ondes de choc à haute pression et des zones de micro-mélanges. Les forces de cisaillement, créées dans le liquide sont si puissantes qu'elles peuvent modifier les interactions chimiques des molécules présentes dans le milieu et conduisent à des mélanges extrêmement efficaces, responsables de la rapide dissolution des produits chimiques et du mélange des gaz présents dans l'eau.
- L'effet chimique est principalement observé à l'intérieur de la bulle de cavitation ou lors de son implosion. Les conditions extrêmes de température et de pression sont suffisantes pour pyrolyser des molécules dans la bulle de cavitation ou pour rompre la liaison $O-H$ de l'eau. Il en résulte la formation d'espèces radicalaires très réactives ainsi que la production d'oxygène atomique gazeux et de peroxyde d'hydrogène (Makino et al., 1983). L'ensemble de ces réactions est repris par les équations [9] à [16].

$$H_2O \rightarrow {}^{\bullet}OH + H^{\bullet} \qquad [9]$$

$$O_2 \rightarrow 2O \qquad [10]$$

$${}^{\bullet}OH + H^{\bullet} \rightarrow H_2O \qquad [11]$$

$$H^{\bullet} + H^{\bullet} \rightarrow H_2 \qquad [12]$$

$$^{\bullet}OH + {}^{\bullet}OH \rightarrow H_2O_2 \quad [13]$$

$$H^{\bullet} + O_2 \rightarrow HO_2^{\bullet} \quad [14]$$

$$2HO_2^{\bullet} \rightarrow H_2O_2 \quad [15]$$

$$H_2O + {}^{\bullet}OH \rightarrow H_2O_2 + H^{\bullet} \quad [16]$$

Plusieurs travaux montrent que l'oxydation radicalaire par les ultrasons est influencée par la fréquence de l'onde (Boucher, 1970 ; Petrier et al., 1992). A basse fréquence (20 – 100 kHz), la durée de vie de la bulle de cavitation étant supérieure à celle des radicaux, ces derniers auront tendance à se recombiner au sein de la bulle de cavitation et leur concentration dans la solution sera faible. Tandis qu'à haute fréquence (200 – 1000 kHz), le temps d'implosion est inférieur à la microseconde, les radicaux seront transférés rapidement hors de la bulle de cavitation pour réagir avec les espèces dissoutes dans l'eau (Petrier et al., 1992).

La cavitation acoustique est à l'origine des effets des ultrasons de puissance sur les milieux qu'ils traversent. Leurs applications sont diverses et variées : nettoyage, émulsification, homogénéisation, soudure de matière plastique et activation des réactions chimiques.

ii. Ultrasons et microorganismes

Les ultrasons sont capables d'inactiver les bactéries et de désagglomérer les agrégats bactériens selon des processus physiques, mécaniques ou chimiques provenant de la cavitation acoustique. L'énergie dissipée par la cavitation détruit ou affaiblit la croissance bactérienne selon différents processus (Allinger, 1975 ; Hughes et Nyborg, 1962 ; Johnson, 1929) :

- L'implosion des bulles de cavitation produit localement de très fortes températures et pressions qui désintègrent les cellules biologiques et/ou dénaturent les enzymes.
- L'implosion des bulles produit des forces de cisaillement et des micro-jets qui provoquent des dommages sur la membrane des cellules biologiques.
- Les micro-mélanges du liquide autour de la cellule provoquent un stress sur les espèces microbiologiques perturbant leur croissance. Ils vont conduire à une fatigue mécanique obtenue sur une période de temps plus ou moins longue selon la fréquence des ultrasons utilisés.
- Des micro-courants provoqués par les bulles oscillantes sont générés au sein des cellules, créant des forces de cisaillement entraînant leur destruction.
- Les radicaux formés lors de l'implosion des bulles attaquent la structure chimique de la paroi de la cellule, l'affaiblissant jusqu'au point de rupture.

Des études récentes réalisées sur des suspensions de *Bacillus* mettent en avant une action des ultrasons différente selon la fréquence et la puissance acoustique volumique appliquées (Joyce et al. (2003b)) :

- les ondes de basses fréquences (20 et 38 kHz) conduisent à une réduction nette du nombre de cellules bactériennes viables. Pour de fortes puissances volumiques ($P = 0{,}36\ W.cm^{-3}$), le nombre de bactéries diminue régulièrement montrant une prédominance du taux de destruction. Pour des puissances volumiques faibles

($P = 0{,}18$ W.cm^{-3}), il se produit deux phénomènes consécutifs. Dans un premier temps, le nombre de bactéries augmente suite à la destruction des amas de bactéries, entraînant un nombre plus important de bactéries individuelles. Puis, le nombre de bactéries diminue, la destruction ou la désactivation des bactéries devenant le mécanisme prépondérant.

- les ultrasons de hautes fréquences (512 et 850 kHz) ne sont pas particulièrement efficaces à faible puissance volumique (0,071 W.cm^{-3}) pour la désinfection. Ils conduisent à une désagglomération des amas de bactéries mais ne permettent pas la destruction des bactéries individuelles (Joyce et al., 2003b).

En désinfection, les ultrasons utilisés seront donc principalement des ultrasons de basse fréquence et de haute puissance car plus bénéfiques avec une destruction plus importante des bactéries (Joyce et al., 2003b ; Phull et al., 1997 ; Scherba et al., 1991). Phull et al. (1997) montrent qu'après 15 minutes de sonification, environ 80% des *Escherichia coli* présentes en suspension sont détruites ou inactivées avec une dose d'ultrasons de 15 W.cm^{-3} à une fréquence de 20 kHz.

Une étude sur *Legionella pneumophila* en présence d'amibes *Acanthamoeba castellanii* (sous forme trophozoïte ou de kystes) montre que les ultrasons – à une fréquence de 36 kHz – n'affecte pas la viabilité de *Legionella* sur du long terme (Declerck et al., 2010). Ils détruisent très rapidement les hôtes sous leur forme active mais pas les kystes où les légionelles se retrouvent alors protégées. En effet, après 30 minutes d'application du traitement (puissance 100%), l'abattement de ces bactéries n'est que de 1,3-log. Sous une puissance d'ultrasons plus faible, *Legionella* montre sa capacité à passer sous une forme VBNC.

D'autres paramètres influencent également le taux de désinfection du traitement par ultrasons : le volume d'eau traitée, le débit et le nombre de passages dans le réacteur, la concentration initiale en bactéries (Hulsmans et al., 2010). Si l'eau ne passe qu'une seule fois dans le réacteur à ultrasons, l'utilisation d'un faible débit permet un contact plus long entre le traitement et l'eau à traiter, et ainsi une meilleure efficacité. Par contre, si le nombre de passages est beaucoup plus élevé, le débit peut être bien plus important. La recirculation importante dans le réacteur permet ainsi de contrôler le niveau bactérien. Quelle que soit la concentration initiale en bactéries, l'abattement sera le même. Ainsi, pour obtenir une faible teneur finale à partir d'une concentration en bactéries élevée, le temps requis sera plus important.

Ces études menées en laboratoire montrent ainsi qu'un temps d'irradiation long est nécessaire afin d'être certain d'obtenir un faible niveau bactérien (Hulsmans et al., 2010 ; Joyce et al., 2003b ; Scherba et al., 1991). Cependant, en raison des puissances élevées étudiées, ce procédé s'avère peu économique. Il se pose donc le problème de changement d'échelle entre les études en laboratoire et l'application industrielle.

iii. Application des ultrasons au traitement de désinfection des eaux

L'irradiation ultrasonore présente l'avantage de n'introduire aucun réactif chimique dans l'eau, et ainsi, de n'avoir aucun impact sur le rejet des eaux traitées dans le milieu environnemental. Cependant, comme pour le traitement par ultraviolet, l'absence de

résiduel ne permet pas de prévenir la croissance ultérieure des bactéries et le maintien de la désinfection dans le système (van der Wende et Characklis, 1990).

Malgré la bonne efficacité des ultrasons pour la désinfection, l'important coût énergétique dû aux fortes puissances nécessaires à la décontamination microbienne joue en sa défaveur (F.W.R., 1995). Cependant, les retours d'expériences sur l'application des ultrasons à grande échelle semblent montrer que les puissances acoustiques appliquées sont bien inférieures à celles obtenues en laboratoire. Afin de vérifier l'application des ultrasons à plus grande échelle, Mason et al. (2003) ont testé deux pilotes ultrasons en laboratoire sur une suspension de *Bacillus subtilis* (20 litres) :

- un système basse fréquence utilisant le transducteur Martin Walter Push-Pull™. Celui-ci émet radialement des ultrasons à 27 kHz (1000 W) présents au sein d'un tuyau transportant l'eau. Sur les deux premières minutes de sonification, le nombre de bactéries viables augmente brièvement, indiquant la désagglomération des amas bactériens. Il diminue ensuite régulièrement jusqu'à atteindre, après 60 minutes de sonification, un taux de bactéries viables inactivées ou détruites de 73%.
- un système hautes fréquences utilisant le système Undatim Sonoxide™ (2 MHz ; 300 W). Au cours des deux premières heures d'irradiation, le nombre de bactéries augmente, synonyme d'une désagglomération des amas bactériens, suivi par une diminution. Ce système nécessite environ 5 jours de sonification pour inactiver ou détruire 85% des bactéries viables.

Bien que les études en laboratoire préconisent l'utilisation d'ultrasons de basses fréquences et haute puissance, l'application des ultrasons de hautes fréquences (1,5 à 2 Mhz) et faible puissance, seuls ou couplés, a pu être mise en œuvre sur des TAR. Ils présentent l'avantage d'être plus compétitifs, même si les études en laboratoire semblent montrer qu'ils s'avèrent moins efficaces. Généralement, le système ultrasons est appliqué sur une dérivation du procédé. L'utilisation du système Undatim Sonoxide™ (2 MHz ; 300 W), après 1 à 2 semaines de traitement, a permis d'obtenir une réduction à un niveau acceptable de la pollution initialement présente. Ce dernier est ensuite maintenu tout au long de l'opération (Mason et al., 2003). Les ultrasons peuvent également être couplés avec une injection d'air (Broekman et al., 2010). En effet, la présence de microbulles d'air joue un rôle synergique avec les ultrasons. Ils créent alors un stress sur les microorganismes par la génération de forces de cisaillement, conduisant à la lyse ou à des dommages sur les bactéries. Ce procédé, employé sur des TAR dans différents domaines (université, industrie laitière, industrie chimique, four de frittage) montrent une bonne efficacité avec des teneurs en bactéries cultivables basses et constantes ; une diminution des taux de corrosion et d'entartrage ; une diminution des produits chimiques employés (arrêt complet ou diminution dans l'ajout de biocide). Les biofilms existants sont réduits et leur développement est limité, alors qu'ils ne sont pas directement en contact avec le traitement (Broekman et al., 2010).

Ces applications permettent donc de considérer les ultrasons comme une alternative aux techniques bactéricides conventionnelles (Mason et Tiehm, 2001).

II.1.4. Utilisation couplée d'un traitement physique

Les traitements physiques ne permettent pas le maintien d'un résiduel. Or l'utilisation d'un tel traitement avec un biocide peut permettre de limiter cet inconvénient mais également de diminuer les quantités d'oxydants utilisées. Par exemple, le traitement des ultrasons a été testé en complément d'une chloration. L'utilisation de la sonification puis de la chloration présente l'efficacité de désinfection la plus importante, sans dégazage du chlore libre (Phull et al., 1997). Les conditions optimales de ce traitement sont : 1 minute de sonification à $P = 8\ W.cm^{-2}$ puis $1\ mg.L^{-1}$ de chlore pendant 5 minutes. Dans un tel contexte, les hautes fréquences (800 – 850 kHz) sont les plus efficaces (Duckhouse et al., 2004 ; Phull et al., 1997). Elles permettent de désagglomérer les amas de bactéries, rendant par la suite les cellules individualisées plus susceptibles à l'attaque du chlore, soit par un effet direct sur la bactérie, soit par un affaiblissement de la paroi cellulaire (Joyce et al., 2003a). Les résultats en laboratoire montrent un taux de survie de 20% avec de telles fréquences contre 75% pour de basses fréquences. Un tel traitement semble approprié pour une application industrielle, avec l'amplification des effets de la chloration par la sonification, le maintien d'un résiduel dans le système et l'utilisation limitée de biocide. Dans le cas d'une TAR, le biocide pourra être ajouté de manière régulière sur l'appoint d'eau ou dès lors que la concentration résiduelle devient trop faible pour une décontamination efficace.

Deux traitements physiques peuvent également être couplés. Par exemple, les ultraviolets peuvent être utilisés en même temps que les ultrasons. Bien que les efficacités d'inactivation des coliformes totaux et *Escherichia coli* en présence seule des UV soient bonnes, les ultrasons présentent l'avantage de nettoyer les lampes UV et de diminuer la taille des particules présentes dans l'eau. Ainsi l'efficacité des UV est améliorée et maintenue tout au long du traitement (limitation de l'encrassement des lampes) (Naddeo et al., 2009). Cependant, l'inconvénient majeur d'une application industrielle d'un tel traitement serait son coût.

II.2. Traitements chimiques

Les principaux traitements chimiques utilisés dans le traitement de l'eau des tours aéroréfrigérantes et des systèmes de refroidissement sont l'utilisation de biocides afin d'éliminer les microorganismes de l'eau, et/ou de biodispersants limitant la fixation des biofilms sur les parois des canalisations du système. Cette partie a pour but de présenter l'ensemble des caractéristiques communes aux biocides puis d'exposer les biocides oxydants et non oxydants ainsi que les biodispersants qu'il est possible d'utiliser et de rencontrer dans les tours aéroréfrigérantes pour l'élimination des bactéries et des légionelles en particulier.

II.2.1. Généralités sur les biocides

i. Définition et mode de fonctionnement

Les produits biocides sont « des préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont destinées à détruire, à repousser ou à rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action chimique ou biologique » (Directive du Parlement Européen et du Conseil, 16

février 1998). L'activité antibactérienne des biocides est déterminée par leur réactivité chimique avec certaines fonctions organiques. Les biocides ne font aucune sélection entre les groupements libres et ceux liés à la cellule. De plus, selon les concentrations utilisées, ils ont un effet différent (Woodcock, 1988) :

- à faibles concentrations : un effet bactériostatique sera observé, empêchant la multiplication et la reproduction des bactéries. Il dépend essentiellement du temps de contact.
- à fortes concentrations : un effet bactéricide sera observé, éliminant les microorganismes. La prolifération des bactéries est stoppée mais celle-ci reprendra dès que les conditions défavorables auront disparues. Certaines bactéries peuvent former des spores et résister ainsi aux conditions défavorables à leur développement.

D'une manière générale, les biocides s'attaquent aux composés fonctionnels de la cellule provoquant un stress chez les microorganismes (Wainwright, 1988) (Figure 6). En effet, leurs cibles sont les composés de la membrane cytoplasmique ou le cytoplasme lui-même. Mais avant de pouvoir les atteindre, ils doivent d'abord traverser la paroi pour ensuite atteindre le site voulu, tout en conservant une concentration minimale afin d'avoir une efficacité visible (Brözel et Cloete, 1993). La quantité de biocide nécessaire à la désinfection peut alors être importante.

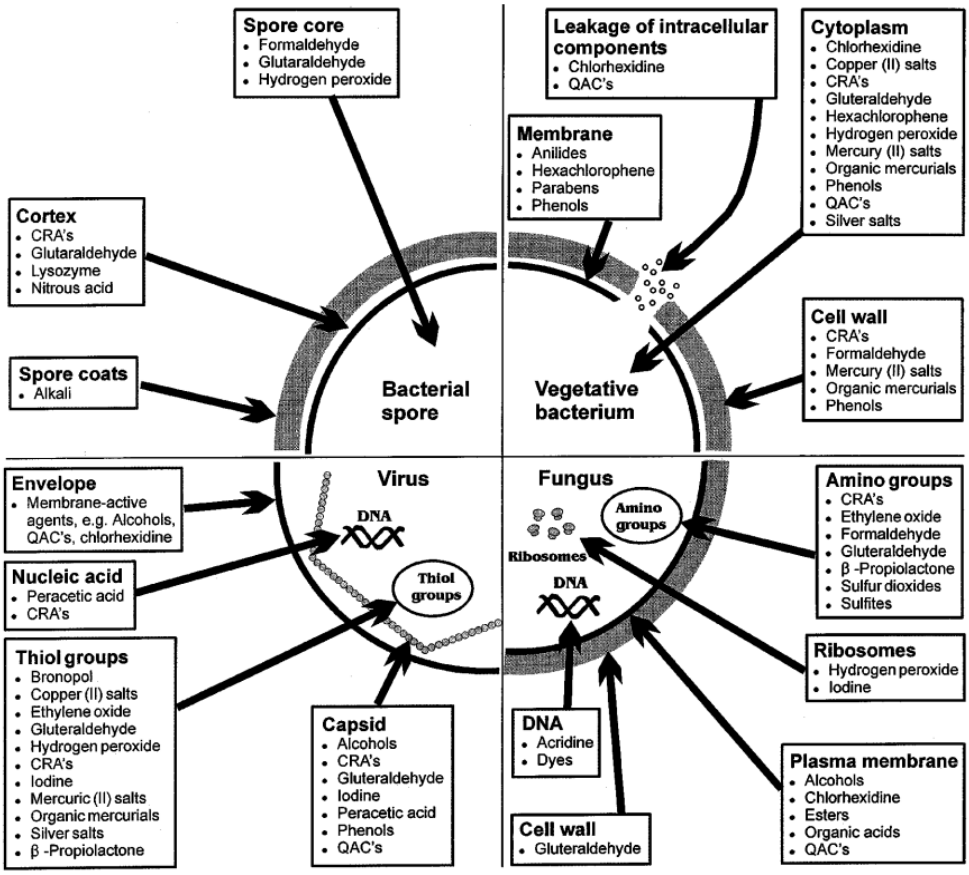


Figure 6 : Actions de différents biocides sur les bactéries, spores, champignons et virus (Russell et al., 1997)

CRA's = agents libérant du chlore ; QAC's = composés quaternaires d'ammonium

Les agents biocides se classent en deux catégories :

- les agents oxydants : ils détruisent les microorganismes par oxydation chimique en pénétrant la paroi cellulaire et en perturbant leur métabolisme. Leur action n'est pas sélective.
- les agents non oxydants : ils réagissent avec des constituants précis de la cellule ou inhibent certains processus métaboliques. Leur activité est sélective et généralement indépendante du pH.

ii. Choix d'un biocide

D'une manière générale, le biocide choisi doit posséder des fonctions désinfectantes tout en minimisant, voir en évitant un impact environnemental (limitation des fonctions d'oxydation non voulues) (Miller, 1993). Le choix d'un biocide est réalisé en prenant en considération les paramètres suivants (Cloete et al., 1998) :

- connaître les organismes à éliminer,
- sélectionner le ou les biocides adéquats en déterminant les concentrations respectives et le temps de contact nécessaire,
- déterminer la fréquence de dosage,
- contrôler les microorganismes grâce à des analyses,
- contrôler leur présence sur les surfaces (biofilms).

Il est également nécessaire de se préoccuper de la chimie du milieu environnant (Cloete et al., 1998) car les biocides ne réagissent pas seulement avec les cellules vivantes mais aussi avec d'autres composés organiques. Il est alors nécessaire de prendre en considération les paramètres suivants : le pH, la température de l'eau, la dureté de l'eau, les composés organiques tels que les protéines et les saccharides, les additifs – agents antitartre et inhibiteurs de corrosion.

iii. Résistance aux biocides et impacts environnementaux

Une diminution dans l'efficacité d'un traitement bactéricide peut être due à des conditions défavorables de traitement (Cloete et al., 1992). Mais, ce n'est pas la seule cause, les résistances développées par les microorganismes peuvent également en être responsables. Il peut s'agir d'adaptations phénotypiques, de modification du taux de croissance, du développement d'un phénotype spécifique, ou encore de la limitation de la diffusion / réaction du biocide.

La présence de biofilms joue donc un rôle très important de résistance face aux biocides, car même si ces derniers sont capables de réduire le nombre de bactéries sessiles de 80 à 99%, il n'en reste pas moins que 1 à 20% de bactéries attachées aux surfaces restent viables et sont capables de contaminer à nouveau le système (Wright et al., 1991). Il est donc nécessaire d'utiliser un biocide capable de pénétrer le biofilm afin d'atteindre les bactéries et souvent d'appliquer un temps de contact plus long que pour les bactéries planctoniques. Dans le cas de *Legionella pneumophila*, il faudrait 4 fois plus de temps pour contrôler les populations sessiles que les populations planctoniques (Wright et al., 1991). Il a même été montré que les amibes, isolées à partir d'une tour de refroidissement d'un système de conditionnement d'air, exposées à des biocides non-oxydants, présentent une résistance plus importante que des cultures pures n'ayant pas vu de tels traitements (Srikanth et Berk, 1993, 1994).

Les biocides utilisés pour traiter les eaux industrielles sont rejetés dans l'environnement via les purges de déconcentration effectuées. Idéalement, un biocide doit seulement affecter les microorganismes ciblés. Cependant, tous les produits chimiques ont certains effets sur les plantes et la vie animale, à plus ou moins fortes concentrations. Il est toujours présumé que la dilution et la dégradation naturelle inactiveront chacun des biocides et les investigations en laboratoire indiquent que les biocides disponibles en commerce peuvent être biodégradables. Mais de tels résultats ne laissent pourtant pas supposer que la biodégradation se produira tout aussi facilement dans l'environnement. Il est donc nécessaire de garder à l'esprit que si les biocides continuent à être utilisés aussi fréquemment en industrie, il sera nécessaire de trouver des solutions aux problèmes d'efficacité *in situ*, de résistance, de biodégradabilité et d'impacts sur l'environnement.

II.2.2. Biocides oxydants

Les biocides oxydants sont des biocides non sélectifs dans leur action. Ils oxydent chimiquement la structure cellulaire du microorganisme en plaçant ainsi la bactérie dans une forme de stress (Wainwright, 1988). L'attaque du biocide étant destructrice, il est impossible qu'un organisme montre ou développe une immunité importante face au biocide oxydant (Keister, 2008). Cependant, il est reconnu que les communautés bactériennes placées sous un effet de stress présentent une plus faible diversité d'espèces, ne sélectionnant que les espèces saines, en bon état (Atlas et Bartha, 1986). Il semblerait alors, que lorsqu'un biocide est le facteur stressant, ces espèces sont plus résistantes ou plus tolérantes face à son attaque.

L'utilisation de ces biocides oxydants se fait dans différents contextes : le traitement d'eau potable, les piscines, les tours aéroréfrigérantes... Ils peuvent être appliqués de manière préventive, c'est à dire par injection en continu à de faibles concentrations avec un suivi permanent afin de contrôler le niveau de corrosion engendré par leur emploi (Leteneur, 2003) ; mais également en traitement choc, avec l'apport d'une grande quantité de biocide sur de courtes périodes et de manière répétée.

D'une manière générale, les biocides oxydants sont assez économiques grâce à un faible coût de production, un effet rapide sur les microorganismes et une efficacité à de faibles doses (Keister, 2008). D'autres avantages et inconvénients seront détaillés pour chacun des biocides présentés.

Il existe différents biocides oxydants dont le plus connu et le plus utilisé est le chlore. Mais d'autres biocides existent et sont retrouvés en désinfection. Ils seront également passés en revue.

i. Chlore

❖ **Généralités**

Le chlore peut être ajouté à l'eau sous forme de chlore gazeux ou par ajout de sels d'hypochlorite (hypochlorite de sodium, hypochlorite de calcium), mais aussi par production *in situ* d'hypochlorite via l'électrolyse d'une solution saline.

Lors de son introduction dans l'eau, le chlore se présente sous différentes formes :

- ***le chlore libre,*** correspond aux formes du chlore Cl_2, de l'acide hypochloreux $HClO$ et des ions hypochlorites ClO^-. Ces espèces proviennent de la réaction du chlore sur l'eau ([17] à [19]) :

$$Cl_{2\,(gaz)} \rightleftarrows Cl_{2\,(solution)} \qquad s = 6{,}7\ g.L^{-1} \text{ à } 20°C \qquad [17]$$

$$Cl_{2\,(aq)} + 2H_2O \rightleftarrows HClO + H_3O^+ + Cl^- \qquad K = 2{,}5.10^{-4}\ à\ 25°C \qquad [18]$$

$$HClO + H_2O \rightleftarrows ClO^- + H_3O^+ \qquad K = 2{,}5.10^{-8}\ à\ 25°C \quad pK_a = 7{,}6 \qquad [19]$$

  La prédominance de ces espèces dépend du pH. Pour une eau proche de la neutralité, le chlore libre sera principalement sous sa forme d'acide hypochloreux [21] ; par contre pour des pH supérieurs à 7,6, il sera sous sa forme d'ions hypochlorite ClO^- [22]. Parmi ces espèces, $HClO$ a un effet biocide plus marqué que ClO^- grâce à un pouvoir oxydant plus important :

$$Cl_{2\,(aq)} + 2e^- \rightleftarrows 2Cl^- \qquad E° = 1{,}36\ V \qquad [20]$$

$$HClO + H^+ + 2e^- \rightleftarrows Cl^- + H_2O \qquad E° = 1{,}49\ V \qquad [21]$$

$$ClO^- + H_2O + 2e^- \rightleftarrows Cl^- + 2OH^- \qquad E° = 0{,}90\ V \qquad [22]$$

- ***le chlore combiné***, correspond à sa combinaison avec l'azote ammoniacal avec la formation de chloramines minérales (mono-, di-, tri-chloramine – équations [23] à [25]) et organiques (issues de la réaction du chlore avec l'azote réduit présent dans les matières organiques naturelles et autres molécules organiques telles que les protéines).

$$NH_4^+ + HClO \rightarrow NH_2Cl + H_3O^+ \qquad k = 1.10^6\ L.mol^{-1}.s^{-1} \qquad [23]$$

$$NH_2Cl + HClO \rightarrow NHCl_2 + H_2O \qquad k = 3{,}5.10^2\ L.mol^{-1}.s^{-1} \qquad [24]$$

$$NHCl_2 + HClO \rightarrow NCl_3 + H_2O \qquad k = 2{,}1\ L.mol^{-1}.s^{-1} \qquad [25]$$

  Les chloramines minérales (NH_2Cl et $NHCl_2$) ont un certain pouvoir oxydant et surtout désinfectant. Cependant, l'effet bactéricide des chloramines est moins élevé que celui du chlore libre. La monochloramine et la dichloramine sont considérées respectivement 3 – 5 et 20 – 30 fois moins actives que le chlore libre.

❖ Chlore et microorganismes

D'une manière générale, le chlore affecte la respiration, les activités de transport et les acides nucléiques des bactéries, menant à leur inactivation (Haas, 1990). La chloration a aussi pour effet d'interférer dans la perméabilité de la cellule et d'affecter les enzymes (Duckhouse et al., 2004). L'action de $HClO$ sur des bactéries *Escherichia coli* est étudiée de façon plus précise. Malgré le fait que l'acide hypochloreux soit destructif et non sélectif en réagissant avec toutes les molécules biologiques, il apparaît que cet oxydant possède un site cible dans son action, rentrant alors en conflit avec la théorie de la sélectivité. Ce site d'action implique des groupes fonctionnels riches en électrons localisés au sein de l'enveloppe cellulaire (Cloete et al., 1998). Les molécules possédant des sites nucléophiles sont alors les premières cibles visées, incluant les porphyrines et les hèmes, les centres fer-sulfure tel que la ferrédoxine, les bases pyrimidiques et la purine, conjuguées aux amines polyènes, et les groupes sulfhydryles.

Legionella est, quant à elle, plus résistante au chlore que *Escherichia coli* ou d'autres coliformes utilisés en tant qu'organismes indicateurs de la qualité de l'eau de consommation (Kuchta et al., 1993). Pour maintenir une qualité sanitaire en *Legionella pneumophila*, des concentrations en chlore de 2 à 6 $mg.L^{-1}$ sont nécessaires (Kim et al., 2002 ; Lau et Ashbolt, 2009). De telles concentrations sont plus élevées d'environ 1 $mg.L^{-1}$ que celles retrouvées typiquement dans les eaux potables. Cependant, un résiduel de chlore libre, à une concentration de 0,1 à 1,5 $mg.L^{-1}$, réduit et contrôle les populations de *Legionella pneumophila* aussi longtemps que ce résiduel est maintenu (Thomas et al., 1999). McCall et al. (1999) observent une réduction supérieure à 4-log de *Legionella* (de croissance naturelle, sous forme planctonique et sessile) en moins d'une heure avec une simple dose de 2 $mg.L^{-1}$ de chlore dans un système d'eau circulante ($Ct = 60\ mg.min.L^{-1}$). Dans une configuration similaire (système d'eau domestique avec recirculation et présence de bras), Thomas et al. (2004) montrent aussi qu'une concentration de 2,5 $mg.L^{-1}$ de chlore est très efficace sur *Legionella pneumophila* et la flore microbienne plus globalement. Lors d'une forte prolifération en légionelles, celle-ci peut être limitée et diminuée grâce à une hyperchloration. Il s'agit d'injecter une concentration en chlore de 20 à 50 $mg.L^{-1}$ pendant un laps de temps avec une circulation effective du traitement dans le système suivi du maintien d'une concentration résiduelle en chlore de 1 $mg.L^{-1}$ (Lin et al., 1998). Cette méthode est une mesure d'urgence utilisée pour le nettoyage des tours aéroréfrigérantes lorsque *Legionella* est présente (Barbaree, 1991).

La chloration peut donc supprimer *Legionella* mais que très rarement l'éradiquer (Hamilton et al., 1996). Les légionelles présentes dans un biofilm sont plus difficiles d'accès par le chlore : 3 $mg.L^{-1}$ de chlore libre sont nécessaires pour inactiver et supprimer les bactéries associées au biofilm (Muraca et al., 1987). Cette forte concentration peut s'expliquer par la matrice biofilm mais également pas la présence de *Legionella* dans les protozoaires (Kilvington et Price, 1990). En effet, en présence de cellules hôtes, plus de 4 $mg.L^{-1}$ de chlore sont nécessaires lorsque la bactérie est en présence avec *Hartmanella vermiformis*, une amibe (Kim et al., 2002) et plus de 50 $mg.L^{-1}$ de chlore libre avec des kystes de *Acanthamoeba polyphage* (Kilvington et Price, 1990).

De plus, l'action bactéricide du chlore est plus importante sur *Legionella pneumophila* à haute température (25°C contre 43°C). Mais dans de telles conditions, il est plus difficile de maintenir un résiduel car le chlore se décompose plus vite (Muraca et al., 1987).

❖ **Application du chlore au traitement de désinfection des eaux**

La désinfection par le chlore et ses dérivés présente de nombreux avantages à cause de sa grande efficacité et son utilisation extensive (Labas et al., 2006). Il est également simple à doser (Silva Martínez et al., 2004) et le biocide oxydant le plus économique pour des concentrations d'utilisation de 0,5 à 1,5 $mg.L^{-1}$ (Keister, 2008). Cependant, le chlore pose des problèmes de sécurité relatifs à son stockage et sa manipulation. Il est fortement dépendant des paramètres de température et de pH qui influent sur son efficacité, et son action résiduelle est de courte durée (Silva Martínez et al., 2004). Ce type de traitement présente également d'autres inconvénients liés :

- ***à la corrosion.*** Les concentrations de chlore utilisées peuvent provoquer une corrosion notable des tuyaux de distribution (Oguma et al., 2004), conduisant à deux conséquences distinctes. D'une part, au sein des dépôts de corrosion, des organismes autotrophes peuvent exister, générant ainsi de la matière organique, qui après décomposition, redonne des éléments nutritifs aux autres cellules hétérotrophes. Il existe ainsi des zones micro-aérobies et anaérobies dans les dépôts et dans les biofilms, et ce, jusqu'à la surface au contact avec un éventuel biocide présent dans l'eau. Ces zones permettent alors aux espèces présentes de trouver de la nourriture et une protection leur permettant de se multiplier ou au moins de survivre. D'autre part, cette présence de corrosion augmente la consommation du chlore résiduel (Levi, 2001). Il est donc nécessaire d'avoir des matériaux de construction et des tuyaux résistants à cette corrosivité du chlore, avec, par exemple, une couche protectrice de silicate de sodium (Kim et al., 2002).
- ***à la formation de sous-produits chlorés.*** Le chlore réagit avec les composés présents dans l'eau comme l'azote ammoniacal et particulièrement les composés organiques azotés. Ces réactions « secondaires » diminuent l'effet du chlore car ces composés réagissent avec le chlore libre pour former des chloramines organiques et inorganiques (Cloete et al., 1998). Le chlore peut aussi réagir avec la matière organique naturelle (MON) présente dans les eaux brutes formant ainsi des sous-produits de chloration tels que les trihalométhanes (THM) et les acides haloacétiques (AHA) (Chin et Bérubé, 2005). Certains de ces composés ont des propriétés mutagènes et cancérigènes (Nakamura et al., 1993). Ils ont un fort impact environnemental en affectant la vie aquatique si l'eau chlorée est rejetée au milieu naturel. Ils entraînent également une surconsommation du chlore, le rendant moins disponible pour la désinfection (Silva Martínez et al., 2004).
- ***à la résistance des microorganismes et la formation d'agglomérats.*** Certains microorganismes développent une forme de résistance face à ce biocide (Duckhouse et al., 2004). En effet, certains microorganismes sont capables de muter sous des conditions « normales » de chloration. Ainsi, des souches plus tolérantes se développent. Pour combattre ce phénomène, il est possible d'utiliser une plus grande quantité de chlore, qui peut résulter en des goûts et odeurs déplaisants, dus à la formation de chlorophénols et d'autres halocarbones (Joyce et al., 2003a). De plus, le chlore est inefficace pour atteindre les microorganismes se trouvant à l'intérieur des agglomérats de bactéries (Duckhouse et al., 2004).

Le chlore peut donc être une méthode acceptable pour le contrôle de la croissance bactérienne dans les TAR, mais elle connaît plusieurs inconvénients tels que la difficulté du maintien de l'efficacité de désinfection particulièrement lors de hautes températures et de forts pH (Kim et al., 2004).

ii. Brome

Le traitement des eaux de refroidissement à partir de brome est réalisé, soit par introduction d'une solution stabilisée de brome, soit par du brome produit par électrolyse (Keister, 2008). Comme pour le chlore, le brome se dismute dans l'eau pour donner à pH neutre l'acide hypobromeux $HBrO$ ([26] et [27]).

$$Br_{2\,(aq)} + 2H_2O \rightleftarrows HBrO + H_3O^+ + Br^- \quad K = 3{,}5.10^{-9} \text{ à } 25°C \quad [26]$$

$$HBrO + H_2O \rightleftarrows BrO^- + H_3O^+ \quad K_a = 1{,}58.10^{-9} \text{ à } 25°C\ (pK_a = 8{,}8) \quad [27]$$

La stabilité du brome avec le pH est plus grande que celle du chlore grâce à un pK_a d'une unité plus grande que celle de $HClO$.

Les solutions de brome sont préparées à partir d'acide hypobromeux stabilisé par une solution d'acide sulfamique (H_3NSO_3). Les produits de réaction ne sont pas connus avec certitude, mais il semblerait que l'acide hypobromeux soit stabilisé sous forme de monobromosulfamate ($HBrNSO_3^-$), dibromosulfamate ($Br_2NSO_3^-$), et d'ion bromonium (Figure 7). Cet ion formé avec la molécule de sulfamate s'hydrolyserait lentement dans l'eau pour reformer le biocide $HBrO$. (Carpenter, 2006 ; Keister, 2008).

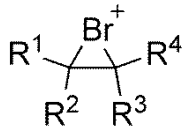


Figure 7 : Ion bromonium

Le traitement au brome peut également être réalisé à partir de composés organohalogénés, qui au contact de l'eau, s'hydrolysent et libèrent de l'acide hypobromeux. Parmi ces composés, les plus connus sont le BCDMH ou BrClR (3-bromo-1-chloro-5,5-diméthylhydantoïne) et le DBDMH ou Br_2R (2,4-dibromo-5,5-diméthylhydantoïne) (Walker et al., 1995)(Figure 8).



Figure 8 : Formules développées de :
(a) 3-bromo-1-chloro-5,5-diméthylhydantoïne (BCDMH),
(b) 2,4-dibromo-5,5-diéthylhydantoïne (DBDMH)

Les réactions correspondant à la formation d'acide hyprobromeux à partir de BCDMH et DBDMH sont les suivantes ([28] et [29]) :

$$BrClR + 2H_2O \rightarrow HBrO + HClO + RH_2 \quad [28]$$

$$Br_2R + 2H_2O \rightarrow 2HBrO + RH_2 \quad [29]$$

Le brome est utilisé dans les piscines et les eaux de refroidissement, mais n'est pas recommandé pour l'eau potable (Haas, 1990). C'est un oxydant présentant les mêmes propriétés oxydantes et désinfectantes que le chlore. Il agira donc sur les bactéries selon le même mécanisme. Cependant, son efficacité contre *Legionella pneumophila* est moindre que le chlore. Par contre, la présence d'un résiduel de brome libre à une concentration de 0,1 à 1,5 $mg.L^{-1}$ réduit et contrôle de telles populations aussi longtemps que le résiduel est maintenu (Thomas et al., 1999). Aucune différence n'a été observée entre les halogénés dérivés du $NaOCl$ ou ceux provenant du BCDMH dans l'inactivation de *Legionella pneumophila* dans les eaux de refroidissement industrielles (McCoy et Wireman, 1989). D'après Keister (2008), le brome, sous ses différentes formes, est le

meilleur biocide oxydant pour l'application aux eaux de refroidissement grâce à sa grande efficacité à des valeurs de pH assez élevées, typiques de la plupart de ces eaux.

iii. Chloramines

Bien que les chloramines soient des biocides moins efficaces que le chlore, elles sont parfois utilisées pour assurer le traitement de désinfection de l'eau. En effet, elles sont plus stables que le chlore préservant ainsi la qualité de l'eau sur une durée plus longue. La monochloramine (NH_2Cl) est la chloramine minérale la plus utilisée en désinfection de l'eau. Elle est formée suite à l'addition, en conditions contrôlées, de chlore et d'ammoniac [30] :

$$NH_3 + HClO \rightarrow NH_2Cl + H_2O \qquad [30]$$

De nombreuses études montrent l'efficacité de la monochloramine à pénétrer les biofilms à des concentrations de 0,5 ; 1 et 1,5 mg.L^{-1} (Kool et al., 1999 ; Türetgen, 2004). Cependant, une étude sur un système d'eau domestique montre qu'une concentration en monochloramine de 0,5 mg.L^{-1} de chlore total ne permet pas le retrait des biofilms (Thomas et al., 2004).

La monochloramine élimine 99,9 % des légionelles associées au biofilm, en laboratoire (Donlan et al., 2005), avec une dispersion rapide des bactéries après son ajout (Cunliffe, 1990). Dans les réseaux d'eau, elle fournit un meilleur contrôle dans la croissance de *Legionella* que le chlore. Cette efficacité plus importante est essentiellement liée à une plus grande stabilité de la monochloramine que le chlore libre, même à des températures et des valeurs de pH élevées, résultant en une concentration résiduelle en désinfectant dans le système plus élevée (Flannery et al., 2006). La monochloramine, à une concentration supérieure à 1 mg.L^{-1}, ne permet pas aux légionelles dans un état VBNC de retrouver leur cultivabilité (Alleron et al., 2008).

La désinfection par la monochloramine est plus lente que pour le chlore. Mais le résiduel de désinfection peut être maintenu sur de plus longues périodes dans les systèmes d'eau (Kool et al., 1999). Cette persistance du résiduel de monochloramine dans les systèmes d'eau s'expliquerait pas sa non-réactivité avec les exopolysaccharides (aucune réduction du biocide après 60 minutes de contact), contrairement au chlore libre (demande en chlore de 0,3 mg.L^{-1} en 30 minutes) (LeChevallier et al., 1988 ; Momba et al., 1999).

D'un point de vue pratique, les chloramines sont générées sur place à partir de chlore (sous forme gazeuse ou par une solution d'hypochlorite) et d'ammoniac (sous sa forme gazeuse ou via une solution d'ammoniaque) (Environmental Protection Agency, 1999b ; Masschelein, 1997). Ce traitement est l'alternative la plus commune au chlore car la concentration en sous-produits formés – trihalométhanes – est moins importante (Kim et al., 2002 ; Singer, 1993). Elles sont également moins corrosives que le chlore libre (Campos et al., 2003) représentant un atout majeur pour les exploitants. Elles conduisent cependant par la présence d'ammoniac à des rejets toxiques vis-à-vis des organismes aquatiques (poissons) (Masschelein, 2001).

Ils existent bien d'autres chloramines. Par exemple, la chloramine organique 3-chloro-4,4-dimethyl-2-oxazolidinone montre une efficacité envers *Legionella pneumophila* plus

faible que le chlore libre. Cependant comme pour la monochloramine, elle présente l'avantage d'être plus stable (Swango et al., 1987).

iv. Dioxyde de chlore

❖ **Généralités**

Le dioxyde de chlore (ClO_2) est utilisé dans le traitement des eaux comme une alternative au chlore. C'est un oxydant hautement sélectif avec les composés organiques et minéraux contenus dans l'eau. Du fait de sa structure radicalaire, le dioxyde de chlore va se comporter comme un accepteur d'électrons [31], contrairement au chlore qui conduit à des réactions d'addition ou de substitution avec la formation de composés chlorés.

$$ClO_2 + e^- \rightleftarrows ClO_2^- \qquad E^\circ_{ClO_2(\text{liquide dissous})/ClO_2^-} = 0{,}95\ V \qquad [31]$$

$$E^\circ_{ClO_2(\text{gaz dissous})/ClO_2^-} = 1{,}15\ V$$

Il réagit en particulier avec des composés pouvant facilement céder un électron. Un grand nombre de produits organiques sont relativement peu ou pas réactifs vis-à-vis du dioxyde de chlore. Les différents résultats rencontrés dans la littérature permettent de classer ces composés en deux catégories (Ben Amor et al., 1984 ; Hoigné et Bader, 1994) :

- Les composés très réactifs avec le dioxyde de chlore à pH proche de la neutralité : les ions nitrite, le peroxyde d'hydrogène, l'ozone, les ions iodure, les ions ferreux ainsi que les composés phénoliques, les amines tertiaires et les thiols. Certains acides aminés (tyrosine, tryptophane, histidine, cystine et méthionine) sont réactifs (Masschelein, 1997) par la présence de leur noyau aromatique ou de groupes sulfure (par exemple, la cystine réagit avec le dioxyde de chlore pour former un acide sulfoné).
- Les composés peu ou pas réactifs avec le dioxyde de chlore à pH proche de la neutralité : les ions bromure, l'ammoniaque, les structures contenant des doubles liaisons carbone–carbone, les composés hydrocarbonés, les amines primaires et secondaires, les aldéhydes, les cétones, les carbohydrates. Les acides aminés qui n'ont pas de groupes réactifs significatifs (glycine, alanine, phénalanine, sérine, leucine) ne réagissent pas avec le dioxyde de chlore dans les conditions normales d'épuration.

Le dioxyde de chlore est fabriqué *in situ* en raison de sa toxicité et de sa grande instabilité. Il se décompose très facilement sous la lumière UV. Un stockage de plusieurs jours, malgré quelques pertes en dioxyde de chlore, est possible si les solutions sont conservées au froid. Sa formation est réalisée selon 3 voies principales (Bergmann et Koparal, 2005) :

- par réaction des ions chlorite avec des acides concentrés tels que l'acide chlorhydrique [32], l'acide sulfurique ou des peroxodisulfates [33] (technique la plus répandue) :

$$5NaClO_2 + 4HCl \rightarrow 4ClO_2 + 5NaCl + 2H_2O \qquad [32]$$

$$2NaClO_2 + Na_2S_2O_8 \rightarrow 2ClO_2 + 2Na_2SO_4 \qquad [33]$$

- par réaction des ions chlorite avec du chlore [34] :

$$2ClO_2^- + Cl_2 \rightleftarrows 2ClO_2 + 2Cl^- \qquad [34]$$

- par électrolyse de solutions d'ions chlorite ou chlorate contenus dans l'eau.

Il existe d'autres méthodes alternatives, comme le remplacement de l'acide chlorhydrique par l'acide méthanesulfonique (AMS) – [35] – d'après le brevet FR 2 817 545 (Suty et Mekarbane, 2000). Ce dernier permet de réduire la quantité d'ions chlorure formés et introduits dans le système (phénomène de corrosion), avec un rendement comparable à celui obtenu par l'acide chlorhydrique.

$$5\,NaClO_2 + 4\,CH_3SO_3H \rightarrow 4\,ClO_2 + 4\,CH_3SO_3Na + NaCl + 2\,H_2O \qquad [35]$$

Le dioxyde de chlore est utilisé, dans la désinfection de l'eau potable, plus largement en Europe qu'aux USA (Kim et al., 2002) et dans les traitements visant à éliminer le goût mais aussi les biofilms présents dans les tuyauteries à cause du problème des légionelles (Bergmann et Koparal, 2005). Il est trouvé très efficace dans les tours aéroréfrigérantes pour des concentrations de 0,5 à 2 mg.L^{-1} (Keister, 2008).

❖ **Dioxyde de chlore et microorganismes**

Les mécanismes de désinfection du dioxyde de chlore ne sont pas bien connus, mais apparaissent comme variables selon le type de microorganismes. Le dioxyde de chlore réagit rapidement avec les acides aminés : cystéine, tryptophane et tyrosine, mais pas avec l'acide ribonucléique ARN des virus (Noss et al., 1983 ; Olivieri et al., 1985). L'inactivation des virus se fait alors par altération des protéines se trouvant sur les acides nucléiques présents avec l'interruption de la synthèse des protéines (Benarde et al., 1967). Le dioxyde de chlore pénètre également facilement la membrane cellulaire des microorganismes en altérant les protéines et lipides se trouvant à sa surface et augmente ainsi sa perméabilité (Aieta et Berg, 1986 ; Ghanbari et al., 1983 ; Olivieri et al., 1985). Il peut également réagir avec les groupements $S-H$ des enzymes conduisant à leur inactivation (Huang et al., 1997).

L'augmentation de la température, de la dose de dioxyde de chlore et du temps de contact permet d'accroître l'inactivation des microorganismes (Barbeau et al., 2005). La présence de matières en suspension, quant à elle, est plutôt un inconvénient : son augmentation tend à diminuer l'inactivation des microorganismes se trouvant au sein de flocs (Environmental Protection Agency, 1999a ; Narkis et al., 1995). Une teneur importante en carbone organique dissous (COD) conduit également à une perte de son efficacité car le dioxyde de chlore réagira davantage avec les groupes fonctionnels de la matière organique que les microorganismes (Ayyildiz et al., 2009 ; Chang et al., 2000).

Le dioxyde de chlore est très efficace dans l'élimination des bactéries (Gopal et al., 2007), comme :

- *Escherichia coli* et *Bacillus anthracoides* à des doses de 1 à 5 mg.L^{-1} (Ayyildiz et al., 2009 ; Huang et al., 1997 ; Trakhtman, 1949),
- les spores de *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus* et *Bacillus megathrium* (Huang et al., 1997 ; Ridenour et Armbruster, 1949). Il est plus efficace que le chlore.

- *Salmonella typhosa* et *Salmonella paratyphi* (Bedulivich et al., 1954). Dans ce cas, il est aussi efficace voir plus que le chlore.
- *Chloropseudomas, Staphylociccus aureus* à un pH de 7 (Huang et al., 1997),
- les coliformes totaux et les bactériophages f2 à des doses comprises entre 0,85 et 10 $mg.L^{-1}$ et des temps plus ou moins longs – de 5 à 240 minutes – (Olivieri et al., 1985 ; Roberts et al., 1980).

Le dioxyde de chlore est également efficace sur *Legionella pneumophila*, qui y est plus sensible qu'*Escherichia coli*. Bien évidemment, ce biocide est plus efficace lorsque la bactérie est sous sa forme libre plutôt qu'en présence d'amibes (Dupuy et al., 2011). Il est d'ailleurs, autant voir plus efficace dans l'inactivation de protozoaires que le chlore. Cependant l'inactivation des espèces *Giardia*, *Cryptosporidium* et *Naegleria gruberi* nécessite un dosage en dioxyde de chlore plus important ou des temps de contact plus longs (Chen et al., 1985 ; Finch et al., 1995 ; Hofmann et al., 1997 ; Korich et al., 1990 ; Ransome et al., 1993 ; Sproul et al., 1983 ; White, 1992).

L'efficacité du dioxyde de chlore est plus importante dans le cas de bactéries libres que fixées (Gagnon et al., 2005) présentant une résistance supplémentaire. Ainsi, bien qu'une concentration de 1 $mg.L^{-1}$ de dioxyde de chlore pendant 18 heures ($Ct = 1\,080\ mg.min.L^{-1}$) permette la réduction de 99,9% des bactéries cultivables planctoniques, 1,5 $mg.L^{-1}$ ($Ct = 1\,620\ mg.min.L^{-1}$)sont nécessaires afin d'atteindre le même abattement dans les biofilms (Walker et Morales, 1997).

❖ **Application du dioxyde de chlore au traitement de désinfection des eaux**

Le dioxyde de chlore affecte généralement la structure de la matière organique en réagissant avec la partie aromatique insaturée. Les sous-produits d'oxydation sont donc à la fois aliphatique mais aussi aromatique avec des poids moléculaires plus faibles que ceux observés dans la matière organique non oxydée (Swietlik et al., 2009). Tous les produits d'oxydation ne sont pas identifiés mais il est possible de citer : les aldéhydes (formaldéhyde, acétaldéhyde, le glyoxal, le methylglyoxal) et les acides carboxyliques (acides formique, acétique, oxalique) (Dabrowska et al., 2003 ; Swietlik et al., 2009). Dans le cas d'un excès en dioxyde de chlore, il peut se former quelques produits chlorés comme l'acide monochloracétique et des traces d'acides monochlorosuccinique, dichloracétique et trichloracétique (Masschelein, 1997).

Les teneurs formées en aldéhydes et acides carboxyliques suite à un traitement au dioxyde de chlore sont de l'ordre de 1,7 – 9,4 $\mu g.mg_{COD}^{-1}$ pour les aldéhydes et 5,3 – 17,9 $\mu g.mg_{COD}^{-1}$ pour les acides carboxyliques (Dabrowska et al., 2003 ; Swietlik et al., 2009). Leur formation est peu influencée par le pH de l'eau ou la dose de dioxyde de chlore appliquée (Dabrowska et al., 2003). Ces composés étant très biodégradables, ils auront peu d'impacts lors du rejet de ces eaux dans le milieu naturel mais cependant, ils peuvent avoir une incidence dans le cadre d'une désinfection d'eau potable.

Les trihalométhanes et les acides haloacétiques formés présentent des teneurs bien inférieures à celles obtenues lors d'un traitement au chlore (Hofmann et al., 1999 ; Lafrance et al., 1993 ; Werdehoff et Singer, 1987). Dans le cas d'une eau de consommation, la quantité de THM est réduite de 80%, et de 60% pour les AHA (Volk et al., 2002). Dans le cas de solutions aqueuses contenant des substances humiques d'origine aquatique et d'eaux brutes, les quantités formées présentent des taux de

réduction moins importants : 40 à 60% en THM, 30 à 50% pour l'acide dichloroacétique, 20 à 30 % pour l'acide trichloroacétique (Ben Amor et al., 1988).

Malgré la formation de sous-produits qu'il est nécessaire de prendre en considération, le dioxyde de chlore est une alternative au traitement au chlore, montré comme plus efficace dans de nombreux cas. Cette différence est liée à la forme sous laquelle sont présents ces biocides dans l'eau : état moléculaire pour le dioxyde de chlore, $HOCl$ et ClO^- pour le chlore. Les bactéries étant principalement chargées négativement, le chlore présente un efficacité moindre car sous sa forme d'ions hypochlorite, il ne réagira pas (Junli et al., 1997). Le dioxyde de chlore présente aussi l'avantage de pouvoir être utilisé en désinfection sur une large gamme de pH (3 à 8) contrairement au chlore (6,8 à 8,5) (Botzenhart et al., 1993 ; Chang et al., 2000 ; Huang et al., 1997).

v. Ozone

L'ozone est produit à partir d'oxygène provenant, soit de l'air, soit de l'oxygène comprimé, par application d'une décharge électrique. C'est un gaz peu soluble et peu stable dans l'eau. Sa décomposition fait intervenir des réactions complexes initiées par les ions hydroxyde OH^- ([36] et [37]) ou par des composés organiques réagissant avec l'ozone. La stabilité de l'ozone diminue avec le pH. Pour des pH supérieurs à 6, il sera décomposé en entités radicalaires très réactives comme les radicaux hydroxyles $^{\bullet}OH$ (E° = 2,80 V) :

$$O_3 + OH^- \rightarrow O_2^{\bullet -} + HO_2^{\bullet} \qquad [36]$$

$$O_3 + O_2^{\bullet -} + H^+ \rightarrow {}^{\bullet}OH + 2O_2 \qquad [37]$$

Certains composés organiques ou minéraux stabilisent l'ozone dans l'eau en piégeant les radicaux $^{\bullet}OH$. C'est le cas en particulier des ions hydrogénocarbonate et carbonate.

L'ozone est un agent oxydant très fort (E° = 2,07 V) qui réagit sur de nombreuses structures chimiques (composés aliphatiques insaturés et composés aromatiques). La chimie de l'ozone dans l'eau est relativement complexe. En solution aqueuse, il peut réagir avec les structures carbonées, soit par une action directe de l'ozone moléculaire, soit par une action indirecte faisant intervenir les entités radicalaires comme les radicaux hydroxyles $^{\bullet}OH$ issus de sa décomposition dans l'eau (Rice, 1997). Ces réactions conduisent à une consommation rapide de l'ozone en solution et à la formation de nombreux sous-produits oxygénés de faible poids moléculaire (acides carboxyliques, aldéhydes et cétones) souvent plus biodégradables que ses précurseurs. Ces substances promeuvent alors la croissance biologique et limitent son efficacité de désinfection (Cloete et al., 1998).

L'ozone est un oxydant principalement utilisé dans les filières de production d'eau potable. Il s'emploie également pour la désinfection des circuits de refroidissement industriels. Il existe actuellement plusieurs centaines de tours aéroréfrigérantes traitées à l'ozone, principalement implantées aux Etats-Unis (Fields, 1996).

L'ozone est également un désinfectant très puissant à large spectre. Il est actif contre les bactéries, les champignons, les virus, les protozoaires, et les spores de bactéries (Khadre et al., 2001). Son efficacité est indépendante du pH. Cependant, sa faible stabilité n'en fait pas un désinfectant rémanent. Il est souvent utilisé comme une alternative au chlore dans le traitement de l'eau, car conduisant à moins de sous-produits de réaction. Etant

donné sa forte réactivité, l'inactivation des microorganismes est liée à l'action de l'ozone dissous et aux intermédiaires radicalaires issus de sa décomposition, mais également au contact physique direct avec l'ozone gazeux injecté dans l'eau (Cho et al., 2003 ; Cloete et al., 1998 ; Farooq et al., 1977). Ce contact ozone / microorganismes oxyde et modifie structurellement les composés de la membrane (protéines, lipides et polysaccharides) conduisant à la destruction de la paroi cellulaire et ainsi à la perte des constituants de la cellule (enzymes, acides nucléiques) qui seront eux-mêmes oxydés (Thanomsub et al., 2002). La perte de la membrane cellulaire par l'ozone est un mécanisme d'inactivation plus rapide que la pénétration nécessaire au chlore. La résistance des microorganismes n'est donc pas possible (Ruiz et al., 2007).

Chaque microorganisme a une sensibilité inhérente à l'ozone. Les plus sensibles sont les bactéries puis les champignons et les levures. Les bactéries Gram-positives sont plus sensibles à l'ozone que les organismes Gram-négatifs. Les spores sont plus résistants que les cellules végétatives (Ruiz et al., 2007).

Les travaux publiés sur l'inactivation de *Legionella pneumophila* montrent que l'ozone est un agent oxydant plus efficace que le chlore et le peroxyde d'hydrogène. Une étude de laboratoire a montré qu'il faut appliquer un résiduel d'ozone de 0,1 – 0,3 $mg.L^{-1}$ pendant 5 minutes (Ct = 0,5 – 1,5 $mg.min.L^{-1}$) pour atteindre un taux d'élimination de 99%, alors qu'il faut environ 30 minutes pour avoir ce même taux de destruction en présence de 0,3 $mg.L^{-1}$ de résiduel de chlore (Ct = 9 $mg.min.L^{-1}$) ou 1 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène (Ct = 30 $mg.min.L^{-1}$) (Domingue et al., 1988). Des résultats similaires ont été observés sur un modèle pilote de tour aéroréfrigérante pour lequel les légionelles sont protégées par le biofilm. Dans ce cas, les résiduels à maintenir sont de 0,1 $mg.L^{-1}$ pour l'ozone contre 1 $mg.L^{-1}$ pour le chlore (McGrane, 1995). Cependant, Thomas et al. (1999) montrent qu'un résiduel d'ozone de 0,1 – 0,2 $mg.L^{-1}$ n'est pas aussi efficace que 1 – 4 $mg.L^{-1}$ de chlore, dans le contrôle de *Legionella pneumophila*. Il est préconisé de maintenir un résiduel d'ozone pour contrôler le développement bactérien. En effet, le temps de demi-vie de cet oxydant, dans une eau ne contenant pas de composés réactifs est inférieur à 1 heure pour un pH de 8 (habituellement rencontré sur des TAR). Ce temps est bien trop court pour assurer un résiduel désinfectant correct (Cloete et al., 1998). Lorsque l'ozone est injecté en continu à une concentration de 1 à 2 $mg.L^{-1}$, une diminution de 5-log de *Legionella pneumophila* en environ 3 heures (Ct = 180 – 360 $mg.min.L^{-1}$) a été obtenu par Muraca et al. (1987) sans qu'il y ait d'effets de la turbidité ou de la température. Ces observations ont été confirmées par Domingue et al. (1988) qui trouvent que l'efficacité de l'ozone n'est pas affectée par le pH et la température. Cependant, Botzenhart (1993) rapporte que l'ozone serait certainement plus efficace à basse température et à fort pH pour lesquels la solubilité de l'ozone serait plus grande et sa conversion en radicaux en serait favorisée.

Des résultats similaires ont été obtenus par Viera et al. (1999) qui ont réalisé une étude sur l'inactivation de *Pseudomonas fluorescens* dans le cas d'un traitement par de l'ozone dissous (0,1-0,5 ppm) d'une eau de refroidissement synthétique. Malgré son mécanisme d'inactivation différent de celui de *Escherichia coli* et *Legionella pneumophila*, la bactérie n'est plus détectée en 15 minutes à 0,28 ppm et en 30 minutes à 0,14 ppm (Ct = 4,2 $mg.min.L^{-1}$). Comme pour la plupart des biocides oxydants, l'ozone se trouve

être moins efficace sur les biofilms que les formes planctoniques. Plusieurs suppositions sont faites à ce sujet :

- une altération des exopolymères et de la composition des couches supérieures de la matrice du biofilm,
- une obstruction des canaux intérieurs de la structure du biofilm par les produits oxydés par l'ozone,
- l'existence d'agrégats microbiens à l'intérieur des biofilms, plus résistants alors à l'action du biocide.

L'application de l'ozone, sur une tour aéroréfrigérante, est principalement réalisée sur un circuit annexe (Figure 9). L'eau est prélevée dans le bassin de la TAR, filtrée sur un filtre à sable puis ozonée. La première étape vise à réduire les poussières et les matières polluantes de l'eau réduisant à la fois les substances nutritives nécessaires à la croissance bactérienne et la consommation en ozone pour l'oxydation. La seconde étape oxyde la biomasse développée et le reste des poussières attachées aux parois du circuit (Hoffmann, 2006). Cette procédure permet un dosage continu de l'ozone, qui garantit avec une faible quantité d'ozone, un pouvoir désinfectant correct et toujours constant.

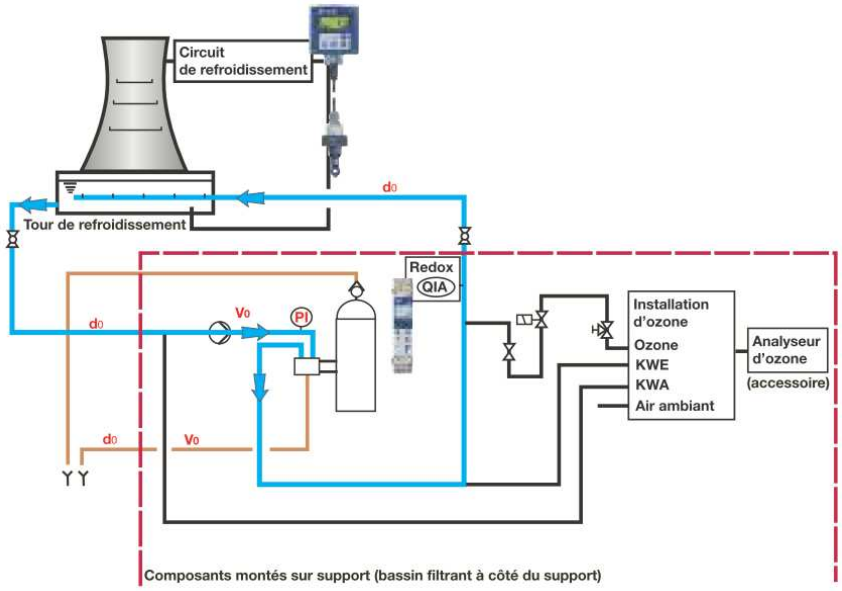


Figure 9 : Schéma du traitement effectué par l'installation Coolzon® (Aquarama, 2009)

L'ozone présente une grande efficacité biocide, un large spectre antibactérien et l'absence de sous-produits, d'où son intérêt comme alternative aux traitements habituels utilisés dans le traitement des eaux de refroidissement (Ruiz et al., 2007). Il a l'avantage de ne pas être toxique à l'émission grâce à sa décomposition très rapide, minimisant ainsi les risques de toxicité (Viera et al., 1999). Il permet aussi d'obtenir une meilleure qualité de l'eau en éliminant, plus rapidement et plus efficacement que le chlore, les bactéries planctoniques avec une destruction du matériel organique, limitant ainsi l'encrassement biologique des canalisations (Viera et al., 1999) et donc la formation de biofilms. Par ailleurs, les microorganismes ne peuvent pas montrer de résistance à l'ozone car il détruit les microorganismes par désintégration de leur enveloppe cellulaire (Ruiz et al., 2007).

Les principaux inconvénients liés à l'utilisation de l'ozone est son instabilité et la difficulté à le solubiliser dans l'eau à des concentrations acceptables pour tuer les bactéries (Rice, 1997). Pour palier aux absences de résiduel, certains auteurs suggèrent l'ajout de faibles doses de chlore se dissipant moins rapidement (Kim et al., 2002). L'ozone a également un haut pouvoir d'oxydation facilitant la corrosion des métaux de structure, ce qui en limite l'utilisation en tant que substituts dans le traitement de l'eau (Strittmatter et al., 1992 ; Viera et al., 1999). Ce procédé est également plus coûteux que le traitement au chlore car il nécessite l'achat d'un générateur d'ozone, sa maintenance et la nécessité d'air pur (Keister, 2008).

vi. Peroxyde d'hydrogène

❖ **Généralités**

Le peroxyde d'hydrogène est un liquide incolore, commercialement vendu sous différentes concentrations (3 à 70%). Il est considéré comme « écologique » car il peut rapidement se dégrader en eau et oxygène (Baig et Mouchet, 2010).

Il est généralement utilisé comme agent d'oxydation. Grâce à son potentiel d'oxydation élevé, il peut oxyder un grand nombre de composés organiques et minéraux. Les principaux types de réactions sont (Duperron, 1999) :

- la décomposition [38] par des catalyseurs appropriés,

$$H_2O_2 \rightarrow H_2O + \frac{1}{2}O_2 \qquad [38] \qquad E^{\circ}_{H_2O_2/H_2O} = 1{,}77\ V$$

- les réactions d'oxydation par transfert, soit d'oxygène, soit d'électrons,
- les réactions de réduction avec production d'oxygène gazeux,
- la formation de composés d'addition (percarbonate),
- la formation de composés peroxydés minéraux (perborate), d'époxydes organiques (oxyde de propylène) et de peroxydes organiques,
- la formation de radicaux libres ($^{\bullet}OOH$, $^{\bullet}OH$).

Afin de prévenir la décomposition des solutions pures, bien qu'elles soient généralement stables, la plupart d'entre elles contiennent des stabilisants afin de prévenir leur décomposition (McDonnell et Russell, 1999).

Les principaux facteurs agissant sur la stabilité des solutions de peroxyde d'hydrogène sont :

- La température : son élévation favorise la décomposition du peroxyde d'hydrogène. Selon la loi d'Arrhenius, la décomposition du peroxyde d'hydrogène est deux fois plus élevée à chaque hausse de température de 10°C. Cette décomposition, étant exothermique, elle peut s'auto-accélérer au-delà d'une certaine température (80°C) (Duperron, 1999).
- Les métaux : la plupart des métaux, notamment le fer, le chrome, le manganèse, le cuivre, le nickel et le zinc décomposent par catalyse le peroxyde d'hydrogène (Haber et Weiss, 1934). Lorsque ces éléments sont sous forme d'alliages, ils deviennent compatibles avec le peroxyde d'hydrogène.
- La lumière : la lumière et les radiations solaires augmentent la vitesse de décomposition des solutions de peroxyde d'hydrogène.

❖ Mode d'action du peroxyde d'hydrogène : le stress oxydatif

Le peroxyde d'hydrogène est fréquemment utilisé comme biocide pour la désinfection, la stérilisation ou comme antiseptique. Il inhibe la croissance et/ou inactive les microorganismes pathogènes comme les champignons, les virus, les bactéries et les levures lorsqu'il est utilisé à des concentrations appropriées (Block, 1991 ; Labas et al., 2008).

Le peroxyde d'hydrogène est une excellente source d'oxygène singulet, de radicaux superoxydes ($O_2^{\bullet -}$) et de radicaux hydroxyles ($^{\bullet}OH$). Ces espèces produisent un stress oxydatif et pourront conduire à des dommages sur les acides nucléiques, les enzymes, les constituants de la membrane, les protéines, l'ADN, l'ARN et d'autres macromolécules cellulaires (Juven et Pierson, 1996 ; Lynch et Fridovich, 1978 ; Schurman, 2001).

Le stress oxydatif n'est pas simplement lié à l'agression de substances chimiques externes, il peut également être une conséquence du métabolisme aérobie propre de la cellule (Halliwell et Gutteridge, 1984), ou de l'action de son système immunitaire sur d'éventuels compétiteurs, ou en réaction à l'attaque d'agents pathogènes (Imlay, 2008 ; Labas et al., 2008).

Tous les organismes connaissent un flux constant d'oxydants qu'ils génèrent eux-mêmes. L'oxygène traverse très facilement les membranes cellulaires (Ligeza et al., 1998) se retrouvant ainsi en concentration similaire à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule. Les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) sont générés à partir de cet oxygène moléculaire lorsqu'il extrait accidentellement des électrons des groupes caractéristiques redox des enzymes participant au transfert d'électron (Fridovich, 1978 ; Imlay, 2008) ([39], [40] et [41]).

$$O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\bullet -} \qquad [39]$$

$$O_2 + 2e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 \qquad [40]$$

$$O_2 + 3e^- + 3H^+ \rightarrow H_2O + {}^{\bullet}OH \qquad [41]$$

Le mélange formé par $O_2^{\bullet -}$ et H_2O_2 est le reflet du transfert d'un ou deux électrons (Messner et Imlay, 1999). Leurs flux dépendent de la concentration en oxygène présente dans le milieu. Dans le cas de *Escherichia coli*, sous de bonnes conditions nutritives, le flux de peroxyde d'hydrogène est de 15 µM.s^{-1}, et 5 µM.s^{-1} pour $O_2^{\bullet -}$ (Seaver et Imlay, 2004). D'une manière générale, les concentrations cellulaires rencontrées en peroxyde d'hydrogène sont de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-7} mol.L^{-1} (3.10^{-5} à 3.10^{-3} mg.L^{-1}), et de 10^{-12} à 10^{-11} mol.L^{-1} en radicaux superoxydes (Fiorenza et Ward, 1997).

Le peroxyde d'hydrogène, apporté au travers d'un traitement biocide, reste la principale source de radicaux hydroxyles :

- par son interaction avec des ions métalliques de transition existant dans le milieu (cuivre, fer…) (Howlett et Avery, 1997),
- par sa participation avec les ions ferreux Fe^{2+} intracellulaires, dont certains sont associés avec l'ADN conduisant à des réactions de Fenton (Imlay et al., 1988),
- par sa combinaison avec les UV (Sundstrom et al., 1992),
- par sa décomposition dans une réaction de dismutation (taux maximal pour une valeur de pH égale au pK_a soit 11,7) (Legrini et al., 1993),

- par sa diffusion à travers la membrane cellulaire produisant directement des radicaux hydroxyles au sein de la cellule (Halliwell et Gutteridge, 1984 ; Imlay, 2008). Dans le cas de *Escherichia coli*, la présence de moins d'1 µmol de peroxyde d'hydrogène intracellulaire est suffisant pour causer des dommages invalidant à l'ADN (Imlay, 2008).

Ces radicaux hydroxyles réagiront alors dans les zones proches de leur lieu de formation et pourront, lorsqu'ils sont présents dans les cellules :

- oxyder différents acides aminés tels que la tyrosine, la phénylamine, le tryptophane, l'histidine, la méthionine et la cystéine conduisant à une perte de la capacité de la molécule dans l'accomplissement de sa fonction spécifique (Storz et al., 1987),
- agir sur les lipides afin de produire une réaction de peroxydation affectant sévèrement l'intégrité de la membrane cellulaire (Coyle et Puttfarcken, 1993),
- augmenter la rigidité de la membrane (due aux réactions de peroxydation) conduisant à la perte de sa perméabilité et à d'autres changements, se concluant par une détérioration de l'organisation interne de la membrane (Dix et Aikens, 2002).

Face au peroxyde d'hydrogène et aux radicaux superoxydes formés par l'autooxydation enzymatique, les cellules présentent des défenses oxydatives de base, leur permettant de se protéger. Cependant, en présence de quantités plus importantes en H_2O_2, $O_2^{\bullet-}$ et $^{\bullet}OH$, elles devront alors développer une réponse additionnelle, qui leur permettra de s'adapter à des conditions oxydatives encore plus stressantes (Imlay, 2008).

❖ **Réponses induites aux ROS**

Le peroxyde d'hydrogène, tout comme les radicaux superoxydes, présente des effets positifs sur les cellules en jouant un rôle de signal de mécanisme. En effet, en présence de radicaux superoxydes, l'enzyme superoxyde dismutase se développe. Chez *Escherichia coli*, son induction est gouvernée par deux protéines : SoxR détecte le stress oxydatif et SoxS est un activateur transcriptionnel régulant positivement des gènes autour du chromosome (Greenberg et al., 1990 ; Pomposiello et al., 2001 ; Tsaneva et Weiss, 1990). Ainsi la présence des radicaux superoxydes joue un rôle de signal au sein de la cellule, lui permettant de développer un métabolisme particulier face au stress oxydatif auquel elle doit faire face.

Le peroxyde d'hydrogène, lui, joue un rôle de signal dans l'activation de voies métaboliques pour stimuler la prolifération cellulaire (Foreman et al., 2003 ; Geiszt et Leto, 2004), la différenciation (Li et al., 2006 ; Sauer et al., 2000), la migration (Veal et al., 2007) ou l'apoptose (Cai, 2005 ; Gechev et Hille, 2005), au travers de régulateurs transcriptionnels de l'ADN, comme OxyR ou PerR (Imlay, 2008 ; Storz et al., 1990).

Mais malgré ce rôle de signal, certaines concentrations seront perçues comme des attaques exogènes (Veal et al., 2007). Les organismes créent alors leur propre mécanisme de défense par le développement d'enzymes (Fiorenza et Ward, 1997 ; Storz et al., 1990), que sont les enzymes superoxydase dismutase, catalase et peroxydase, afin d'éliminer ces substances nocives au niveau des cellules. Dans le cas des cellules eucaryotes, ces enzymes sont exprimées dans les peroxysomes (Veal et al., 2007), organites contenus dans le cytoplasme, séparés par une membrane extérieure.

Chez l'ensemble des organismes aérobies, face à des radicaux superoxydes $O_2^{\bullet-}$ dont la dismutation spontanée n'est pas suffisante pour permettre le maintien de faibles concentrations intracellulaires, les enzymes superoxyde dismutase (SOD) (Imlay, 2008) sont synthétisées. Elles jouent un rôle de catalyseur dans la dismutation des radicaux superoxyde en oxygène et peroxyde d'hydrogène [42] (Gregory et Fridovich, 1973).

$$O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2 \qquad [42]$$

$$RH_2 + H_2O_2 \rightarrow R + 2H_2O \qquad [43]$$

$$H_2O_2 + H_2O_2 \rightarrow O_2 + 2H_2O \qquad [44]$$

Face au peroxyde d'hydrogène, les enzymes peroxydase [43] et catalase [44] sont mises en place. Elles permettent de piéger le peroxyde d'hydrogène avant qu'il ne puisse traverser la membrane cytoplasmique (Imlay, 2008). Suite à un contact avec du peroxyde d'hydrogène, l'induction de catalase se produit chez de nombreuses espèces, telles que *Salmonella typhimurium* (Finn et Condon, 1975 ; Winquist et al., 1984), *Escherichia coli* B (Richter et Loewen, 1982), *Escherichia coli* K12 (Yoshpe-Purer et al., 1977), *Bacillus subtilis* (Loewen et Switala, 1987), *Pseudomonas aeruginosa* (Cochran et al., 2000).

Chez les organismes unicellulaires, face à des niveaux élevés en peroxyde d'hydrogène, la production d'antioxydants est augmentée. Elle permet l'élimination du peroxyde d'hydrogène exogène, et éventuellement la mise en place d'une réparation des protéines si les dommages causés ne sont pas irréversibles. Il s'agit donc d'une adaptation face aux conditions oxydantes du milieu (Fiorenza et Ward, 1997 ; Jamieson, 1998 ; Storz et Tartaglia, 1992). De manière similaire, l'expression du gène antioxydant est activé par les peroxydes chez certains types d'organismes multicellulaires (An et Blackwell, 2003 ; Inoue et al., 2005 ; Sablina et al., 2005).

Ces réponses biologiques particulières sont liées à des concentrations en peroxyde d'hydrogène très différentes. De plus, les mécanismes et les effets sont spécifiques à un type de cellule (Veal et al., 2007).

❖ **Peroxyde d'hydrogène et microorganismes**

Le peroxyde d'hydrogène montre un large spectre d'efficacité contre les virus, les bactéries, les levures et les spores de bactéries (Block, 1991). En règle générale, son activité est meilleure dans le cas des bactéries Gram-positives que Gram-négatives (McDonnell et Russell, 1999), car ces dernières présentent une activité catalasique plus importante (Schulte, 2003). Dans le cas des bactéries planctoniques, si la concentration en peroxyde d'hydrogène est suffisante, les bactéries seront alors éliminées de l'eau, sans pour autant avoir le temps de mettre en place les enzymes catalase, peroxydase ou superoxyde dismutase.

Chez *Escherichia coli*, de faibles concentrations en peroxyde d'hydrogène – 1 à 3 mM (34 à 102 $mg.L^{-1}$) – peuvent entraîner leur létalité au travers des dommages causés à l'ADN, principalement liés aux réactions avec les métaux se trouvant dans cette zone (Imlay et al., 1988 ; Imlay et Linn, 1987). Cependant, pour des concentrations inférieures à 25 $mg.L^{-1}$, l'inactivation des bactéries atteint difficilement 90%, même après des temps de contact importants. Il est nécessaire d'employer des concentrations supérieures à

100 mg.L^{-1} afin d'atteindre une efficacité plus importante (99,99%) tout en conservant des temps de contact important (Labas et al., 2008).

Différentes études ont été menées sur *Pseudomonas aeruginosa*. Par exemple, Stewart et al. (2000) montrent une réduction de 4,6-log des bactéries cultivables, soit une inactivation de 99,997%, 1 heure après l'ajout de 50 mM d'H_2O_2 (1700 mg.L^{-1}, Ct = 102 000 mg.min.L^{-1}). Dans sa thèse, Schulte (2003) montre pour cette même espèce – après 15 minutes de contact avec du peroxyde d'hydrogène – un abattement des bactéries cultivables visible mais peu marqué pour des concentrations de 30 et 150 mg.L^{-1} (Ct = 450 – 2 250 mg.min.L^{-1}). Cet effet devient net pour une concentration de 300 mg.L^{-1} (Ct = 4 500 mg.min.L^{-1}) où l'abattement avoisine 50%. Aucune bactérie cultivable n'est détectable pour une concentration de 1000 mg.L^{-1} (Ct = 15 000 mg.min.L^{-1}) ce qui est contradictoire avec les résultats de Hassett et al. (Hassett et al., 1999) où après 30 minutes à 2550 mg.L^{-1} (75 mM – Ct = 76 500 mg.min.L^{-1}), seulement 81% d'inactivation est rencontré (0,73-log de réduction). Schulte (2003) va plus loin grâce à des analyses DAPI, permettant de quantifier la totalité des bactéries présentes. L'abattement en bactéries totales devient visible et net, (de l'ordre de 30 à 35%), pour des concentrations de 1000 et 3000 mg.L^{-1}.

L'ensemble de ces études montrent ainsi, que malgré d'importantes concentrations en peroxyde d'hydrogène appliquées, l'ensemble des bactéries – cultivables et totales – n'est pas détruit.

Dans le cas des biofilms, l'abattement des bactéries cultivables est plutôt bon avec bien souvent des réductions supérieures à 99% (Tableau 1). Cependant, bien que le peroxyde d'hydrogène semble avoir un effet marquant sur les bactéries cultivables présentes dans les biofilms, ce n'est pas le cas des bactéries totales qui y restent en quantité importante (abattement d'environ 90% seulement). Malgré des résultats négatifs dans le cas d'une eau de consommation (Schulte, 2003), une tendance vers une diminution des paramètres est notable. Les biofilms sont d'ailleurs moins denses après traitement (Christensen et al., 1990 ; Schulte, 2003). D'une manière générale et comme pour la plupart des traitements, les biofilms montrent une résistance plus importante face au peroxyde d'hydrogène que les cellules planctoniques, même avec des temps de contact plus importants (Hassett et al., 1999).

Ainsi l'application de peroxyde d'hydrogène, bien qu'étant non-nocif pour l'environnement (formation d'eau et d'oxygène) nécessite d'importantes quantités amenant à un coût plus important que pour d'autres biocides. De plus, la mise en place d'enzymes éliminant ce biocide est un inconvénient à prendre en considération et à surveiller dans le cas d'une application de désinfection. Cependant, malgré ces inconvénients, il semblerait que certaines tours aéroréfrigérantes puissent être traitées de la sorte. ARKEMA nous fournit l'exemple d'une TAR, située à Leuna en Allemagne, de 200 m^3 d'eau traitée avec 0,5 L.h^{-1} de peroxyde d'hydrogène à 50% l'hiver, et jusqu'à 2 L.h^{-1} en été.

Tableau 1 : Efficacité du peroxyde d'hydrogène contre les biofilms

Organismes présents dans les biofilms	Matériau	Age du biofilm	H_2O_2 en mg.L^{-1}	Temps de contact	Ct en mg.min.L^{-1}	Abattement log (% inactivation)		Références
						Bactéries cultivables	Bactéries totales (DAPI)	
Eau de consommation	Silicone	50 jours	≈ 15 à 20	1 h	900 – 1 200	5-log (99,999%)	ND	(Exner et al., 1987)
Bacillus subtilis *Escherichia coli* *Pseudomonas aeruginosa*	Tube Tygon®	5 jours	≈ 40	1 h	2 400	> 6-log (99,9999%)	ND	(Alasri et al., 1992)
Isolats d'un système de dosage de désinfectant	Acier inoxydable	45 heures	≈ 10	1 h	600	0,88 à 3,77-log (86,8 à 99,98%)	ND	(Goroncy-Bermes et Gerresheim, 1996)
			≈ 10	3 h	1 800	2,78 à > 5,82-log (99,8 à > 99,9998%)	ND	
Bacillus subtilis (spores)	Cellulose	-	≈ 5100	20 min	102 000	< 6-log (< 99,9999%)	ND	(Herruzo-Cabrera, 2000)
Pseudomonas aeruginosa	Acier inoxydable	14 jours	167 et 171	24 h	240 480 – 246 240	2,5-log (99,7%)	1-log (90%)	(Schulte, 2003)
			340 et 375	24 h	437 760 – 540 000	Entre 1 et 2-log (entre 90 et 99%)	< 1-log (< 90%)	
			610	24 h	878 400	Plus de bactéries cultivables	1-log (90%)	
Eau de consommation	Acier inoxydable	11 à 13 jours	150	24 h	216 000	Pas de diminution notable	Pas de diminution notable	
Pseudomonas aeruginosa	Acier inoxydable	72 heures	1700	1 h	102 000	0,26-log (45%)	ND	(Stewart et al., 2000)

ND = non déterminé

II.2.3. Biocides non-oxydants

Les biocides non-oxydants ont un mode d'action sélectif et souvent indépendant du pH. Ils détruisent les microorganismes en réagissant avec des constituants cellulaires précis ou en perturbant leur métabolisme. Ils vont agir principalement sur les algues, les bactéries et les champignons (Leteneur, 2003).

De tels biocides sont plutôt employés pour la désinfection des circuits d'eau industriels. Leur application conduira à une élimination de certains types de bactéries alors que d'autres ne seront pas affectés (Cloete et al., 1992 ; Heinzel, 1988). Due à cette sélectivité, il est recommandé d'introduire dans l'eau à traiter au moins deux biocides non-oxydants, ou un biocide oxydant et un non-oxydant, sur une base d'un usage alterné à périodicité courte – le plus souvent toutes les semaines ou toutes les deux semaines (Keister, 2008). Cette alternance permet d'éviter la résistance des souches bactériennes au contact avec ces composés (Leteneur, 2003). Les biocides non-oxydants peuvent aussi être utilisés conjointement avec des tensioactifs jouant le rôle de biodispersants (Keister, 2008).

En général, l'utilisation de ces biocides est plutôt réservée pour des actions de chocs curatifs dès lors que la concentration en légionelles est supérieure à 1000 ufc.L^{-1} ou lorsqu'un facteur de risque est identifié. Les critères de choix des biocides non-oxydants sont essentiellement basés sur (Merchat, 2005) :

- l'efficacité du désinfectant vis-à-vis des légionelles,
- l'impact du produit sur les rejets de déconcentration : les valeurs limites de rejets sont différentes selon que les purges sont envoyées dans le réseau d'assainissement ou directement dans le milieu naturel,
- l'impact possible du produit sur certains paramètres liés au process : par exemple, l'injection de DBNPA augmente considérablement la teneur en DCO de l'eau ; or, ce paramètre peut-être un indicateur de suivi pour détecter une fuite au niveau des échangeurs de certains procédés industriels.

L'utilisation répétée de biocides non-oxydants en traitement choc peut également conduire à un risque plus important de résistance, avec la sélection d'un genre amibien hébergeant des légionelles.

Le principal avantage dans l'utilisation de ces biocides réside dans leur caractère non corrodant aux doses préconisées et leur bonne efficacité à faible concentration (Leteneur, 2003). Cependant, ces composés sont 2 à 10 fois plus chers que les biocides oxydants (Leteneur, 2003). Certains d'entre eux présentent également une certaine toxicité et font face aux mêmes problèmes environnementaux que les sous-produits provenant de la chloration (Lutey, 2000).

Les principaux biocides non-oxydants sont :

Les thiocarbamates : Il s'agit d'une famille de composés organiques (biocides toxiques) synthétisés à partir de dérivés de l'acide dithiocarbamique et des thiurames.

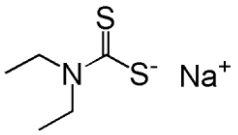


Figure 10 : Formule développée du diéthyldithiocarbamate de sodium

Ces composés ont une bonne efficacité contre les algues et les champignons, mais plus limitée sur les bactéries. Ils appartiennent à la famille des pesticides et sont toxiques pour de nombreux animaux dont les invertébrés aquatiques (Seugé et Bluzat, 1983). Les plus utilisés sont le N-méthyldithiocarbamate de potassium et le diéthyldithiocarbamate de sodium (Figure 10). Ils sont utilisés à des doses de 40 à 60 $mg.L^{-1}$ et peuvent précipiter avec les métaux (Keister, 2008). Leur efficacité sur *Legionella* est très limitée. Pope et Dziewulski (1992) évaluent un mélange de carbamate (disodium cyanodithioimidocarbonate + N-méthyldithiocarbamate de potassium) pour traiter 4 tours de refroidissement à un dosage d'environ 100 $mg.L^{-1}$. Dans un tel cas, le carbamate est inefficace contre la bactérie *Legionella*. Skaliy et al. (1980) en arrivent aux mêmes conclusions avec le disodium éthylene bis[dithiocarbamate], le sodium diméthyldithiocarbamate et les phénols chlorés (par exemple, le pentachlorophenate de sodium). McCall et al. (1999) rapportent une réduction en *Legionella* de 2-log avec une dose en carbamate de 12,8 $mg.L^{-1}$ (dosage maximal recommandé par son fabricant). Cependant, cette efficacité est limitée dans le temps. L'effet des carbamates cesse après 3 heures.

Les isothiazolones : Il s'agit d'une famille de composés organiques comportant un hétérocycle à cinq atomes (Figure 11). Ils présentent un atome d'azote, un de soufre et une fonction cétone sur l'hétérocycle. Trois isothiazolones, possédant une activité antibactérienne, sont utilisés pour des eaux industrielles sont le 5-chloro-N-méthylisothiazolone (CMIT), le N-méthylisothiazolone (MIT) et le benzisothiazolone (BIT) (Collier et al., 1991).

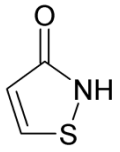


Figure 11 : Formule développée générale des isothiazolones

Ces composés réagissent sur un large spectre de microorganismes comme les bactéries, les algues et les champignons. Il s'agit d'agents électrophiles qui vont altérer la structure tridimensionnelle des enzymes et des protéines structurantes par réaction sur des acides aminés, tels que la cystéine et le glutathion (Collier et al., 1991 ; Russel et Chopra, 1990), inhibant la croissance et le métabolisme de la cellule. Les isothiazolones ont des propriétés bactériostatiques et bactéricides seulement à de hautes concentrations (Collier et al., 1991). La létalité des microorganismes est observée après plusieurs heures de contact. De nombreux travaux ont été réalisés sur l'action des thiazolones sur *Legionella pneumophila*. McCoy et al. (1986) montrent que les thiazolones ont une bonne efficacité vis-à-vis de cette bactérie, avec un abattement de 4 à 9-log avec seulement quelques $mg.L^{-1}$ de biocide sur une journée pour des échantillons d'eau de refroidissement filtrée à 0,45 mm puis inoculés. Des résultats similaires sont obtenus

par Thomas et al. (1999) mais avec une efficacité plus faible du biocide lors de son application sur un système de refroidissement. Ils observent alors moins de 2-log d'abattement sous une concentration de 8 mg.L^{-1} appliquée pendant 12 heures (Ct = 5 760 mg.min.L^{-1}). Le mélange CMIT et MIT, employé sur une TAR de Melbourne, montre des concentrations en légionelles supérieures à 1 000 000 ufc.L^{-1} (Broadbent, 1993), bien qu'il ait été montré comme efficace par Elsemore (1986). Parmi les thiazolones, le CMIT serait plus efficace que le BIT dans l'élimination de *Legionella pneumophila* (Barker et al., 1992). Ces isothiazolones sont aussi moins efficaces que d'autres biocides oxydants ou non-oxydants comme le glutaraldéhyde, le 2,2-dibromo-3-nitropropionamide (DBNPA), le chlore et le chlorure didecyldiméthylammonium (Barker et al., 1992 ; Skaliy et al., 1980).

Les biguanides : Il s'agit de dérivés polymériques de la structure générale de guanidine (Wallhäußer, 1995). Les deux biguanides les plus couramment utilisées comme biocide pour les eaux de refroidissement sont : la biguanide polyhexaméthylène (PHMB) et le 1,6-di(4'-chlorophenyldiguanido)hexane, mieux connu sous le nom de chlorhexidine (Cloete et al., 1998) (Figure 12).

(a) biguanide (b) biguanide polyhexaméthylène (PHMB) (c) chlorhexidine

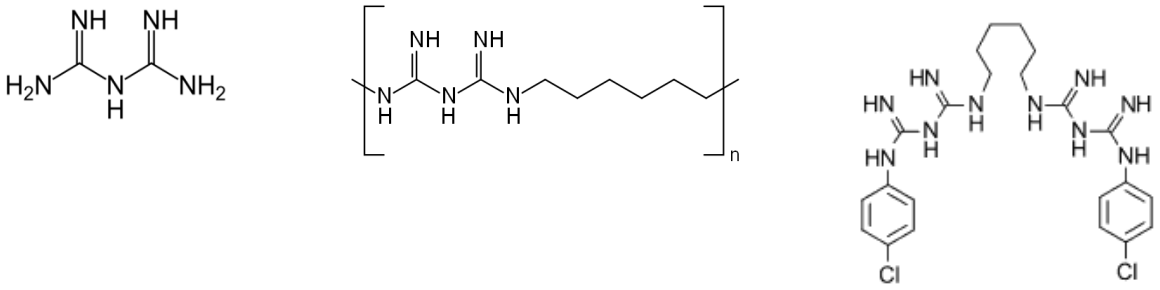


Figure 12 : Formules développées d'espèces de la famille des biguanides

Les biguanides sont bactériostatiques à de faibles concentrations et bactéricides à de hautes concentrations. Elles ont un large spectre d'activité, en particulier contre les bactéries Gram-négatives (Wallhäußer, 1995). Ce sont des agents à membrane active qui s'attachent rapidement aux surfaces des cellules chargées négativement (pH neutre et alcalin). L'efficacité du PHMB sur *Legionella* en présence d'amibes est bien plus importante qu'avec les biocides appartenant à la famille des isothiazolones : CMIT et BIT (Barker et al., 1992).

Les aldéhydes : Deux aldéhydes sont principalement utilisés comme biocide dans le traitement des eaux de refroidissement : le formaldéhyde (ou formol) et le glutaraldéhyde (Figure 13).

(a) formaldéhyde (b) glutaraldéhyde

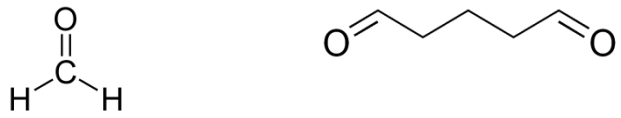
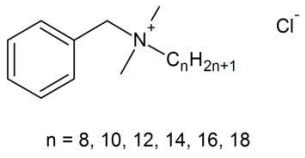


Figure 13 : Formules développées du (a) formaldéhyde et (b) glutaraldéhyde

Ils réagissent essentiellement avec les groupements amino et sulfhydryles. Ces composés vont pouvoir ainsi réagir avec les amines, amides, sulfures, et les bases purines et pyrimides (Rossmoore et Sondossi, 1988 ; Russel et Chopra, 1990). Le formaldéhyde est actif dans une large gamme de pH – de 3,0 à 10,0 – alors que le glutaraldéhyde est actif seulement à des pH de 7,5 à 8,5 (Wallhäußer, 1995), mais est un biocide plus puissant. Une solution à 2% en glutaraldéhyde est dix fois plus bactéricide qu'une solution à 4% en formaldéhyde (Wallhäußer, 1995). Sa réactivité dépend de la température : une solution à 2% tue des spores de *Bacillus anthracis* en 15 minutes à 20°C, alors qu'il requiert seulement 2 minutes à 40°C. Ce composé a déjà été appliqué pour le traitement des eaux de refroidissement. Pope et Dziewulski (1992) ont trouvé une efficacité du glutaraldéhyde à un dosage d'environ 100 $mg.L^{-1}$ pour traitement de 4 tours de refroidissement. Thomas et al. (1999) rapportent que la glutaraldéhyde est efficace à 27 $mg.L^{-1}$ contre *Legionella pneumophila*. McCall et al. (1999) rapportent une réduction supérieure à 3-log de la bactérie *Legionella* à croissance naturelle (à la fois planctonique et biofilm) en moins de 1 heure avec une unique dose de 100 mg L^{-1}. Pope et Dziewulski (1992) et Thomas et al.(1999) précisent dans leurs travaux que ces biocides non-oxydants ne fournissent pas un contrôle durable sans une addition continue d'un biocide à une dose relativement élevée. Pour avoir un contrôle efficace, il faudra donc appliquer un dosage important (130-660 mg L^{-1}), conduisant à un coût de traitement relativement élevé (Keister, 2008).

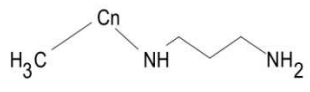
Les amines : Ce sont des surfactants efficaces qui peuvent agir comme biocide du fait de leur capacité à tuer les microorganismes. Leur mécanisme bactéricide est dû à la rupture des interactions intermoléculaires qui provoquent la dissociation des lipides dans la membrane cellulaire, compromettant ainsi la perméabilité de la cellule et induisant la perte des constituants cellulaires. Ils peuvent aussi améliorer l'effet biocide des produits phénoliques chlorés quand ils sont utilisés dans l'eau. Les principales amines utilisées sont le chlorure de N-alkyldiméthylbenzylammonium (CADBA), le N-akyl-1,3-propanediamine (ATMD), et le chlorure didécyldiméthylammonium (CDDA) (Kim et al., 2002) (Figure 14).

(a) chlorure de N-alkyldiméthylbenzylammonium (CADBA)



n = 8, 10, 12, 14, 16, 18

(b) N-alkyl-1,3-propanediamine (ATMD)



(c) chlorure de didécyldiméthylammonium (CDDA)

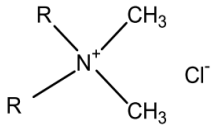


Figure 14 : Formules développées du (a) CADBA, (b) ATMD et (c) CDDA

L'efficacité de ces amines dans l'élimination des légionelles dépend de l'amine utilisée. Il semblerait que les ammoniums quaternaires ont une efficacité plus importante que les amines primaires. Cette efficacité a pu être observée pour le N-alkyldiméthylbenzylammonium (CADBA) (Miller et al., 1981) et pour deux amines quaternaires – (4,4'-(1,6-hexaméthylènedithio)bis(1-octylpyridimium iodide) et N,N'-hexamethylenebis[4-carbamoyl-1-decylpyridinium bromide]) – pour des doses variant de 12,5 à 50 $mg.L^{-1}$ avec des temps de contact de 2 à 24 heures selon le produit et

la dose appliquée (Ct = 1 500 – 72 000 mg.min.L^{-1}) (Shirai et al., 2000). Des résultats similaires ont également permis de montrer que la dose en CADBA peut être diminuée s'il est utilisé en association avec un composé organostannique comme l'oxyde de bis[tri-N-butyltin] (Grace et al., 1981). Dans de telles conditions, *Legionella pneumophila* est inactivée avec une dose de 2 mg.L^{-1}. L'ATMD est par ailleurs moins efficace que le CADBA (Grace et al., 1981).

Les amides halogénés : L'amide halogéné la plus largement utilisée est le 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamide (DBNPA) (Figure 15) :

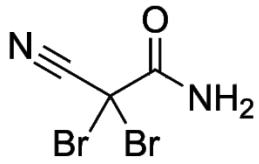


Figure 15 : Formule développée du 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamide

Le DBNPA ne s'hydolyse pas en acide hypobromeux contrairement au BCDMH (1-bromo-3-chloro-5,5-dimethylhydantoïne) ou au DBDMH (2,4-dibromo-5,5-dimethyl-hydantoïne). Son groupement nitrile est hautement actif et lui confère une bonne efficacité contre les algues, les champignons et les bactéries. Cet amide bromé est plus efficace contre *Legionella pneumophila* planctonique que les composés organobromés (BCDMH ou DBDMH) (Skaliy et al., 1980). Il semblerait cependant que le DBNPA soit moins efficace que le chlore (Skaliy et al., 1980). Dans un pilote de refroidissement de laboratoire, une dose de 8 à 15 mg.L^{-1} de DBNPA avec un temps de contact de 3 heures (Ct = 1 440 – 2 700 mg.min.L^{-1}) permet un abattement de 3 à 4-log en légionelles planctoniques et sessiles. Cette dose peut être réduite à 1 mg.L^{-1} pour un traitement continu de l'eau (Gao et al., 2001 ; Thomas et al., 1999).

II.2.4. Biodispersants

Les biodispersants sont des composés qui vont disperser les incrustations (macromolécules organiques – protéines, exopolymères, acides aminés, substances humiques… –, microorganismes, débris de sédiments…) déposées sur les parois en de petites particules restant alors en suspension dans l'eau. Ces agents de surfaces vont ainsi aider les biocides à mieux pénétrer les dépôts organiques et inorganiques, aidant dans la destruction des bactéries dans les zones aérobies (Hart et al., 1990 ; Strauss et Puckorius, 1984). Les biodispersants vont aussi restreindre la formation de biofilms sur les surfaces propres en empêchant la formation de dépôts. Les suspensions sont ensuite éliminées au travers d'une filtration ou d'une purge. Etant donné le mode d'action des biodispersants, il est peu probable que ces composés provoquent des effets mutagènes sur les bactéries ou que les microorganismes soient capables de devenir résistants à l'action des biodispersants (Russel et Chopra, 1990).

Les dispersants utilisés sont, soit d'origine naturelle, soit synthétiques. Les dispersants naturels, tels que les lignines et les tanins, fournissent de bons résultats mais doivent être appliqués en continu et à des doses relativement élevées (50 à 200 mg.L^{-1} de produit actif) (Strauss et Puckorius, 1984). Ils sont biodégradables et pourront alors être utilisés comme nutriments pour les microorganismes, stimulant alors leur croissance et résultant dans une baisse du contrôle de l'encrassement. Les polymères synthétiques

solubles dans l'eau sont les dispersants chimiques les plus communément utilisés. Ils représentent une amélioration majeure sur les dispersants naturels pour plusieurs raisons (Strauss et Puckorius, 1984) :

- Ils peuvent être fabriqués sans poids moléculaire spécifique.
- Ils ne sont pas facilement dégradés par les organismes biologiques.
- Ils ne réagissent pas avec le chlore ou les sels ferriques.
- Ils sont généralement moins coûteux que les biocides et peuvent être utilisés à de faibles concentrations (quelques $mg.L^{-1}$) (Poulton, 1993).

Trois types de tensioactifs sont utilisés :

Les tensioactifs anioniques : La majorité de ces tensioactifs sont des sulfonates d'alkyle et d'aryle de type RSO_3^- car ils ont un excellent pouvoir détergent. Ils dissolvent éventuellement la membrane de la bactérie et réduisent ainsi sa perméabilité (Attwood et Florence, 1983 ; Strauss et Puckorius, 1984). Ils sont constitués de chaînes alkyles en C10 à 15, mais principalement C11 et C12 substitués sur un cycle aromatique en position para du groupe sulfonate (Attwood et Florence, 1983). Ces tensioactifs peuvent être utilisés comme tensioactif exclusif ou en mélange avec d'autres agents actifs anionique, non-ionique ou cationique (Karsa, 1989).

Les tensioactifs non-ioniques : Ces agents de surface n'ont pas de charge électronique mais présentent un groupement polaire et un groupement apolaire. Les groupements non-polaires sont principalement dérivés d'hydrocarbures, d'alcools ou de sources d'acides gras avec des squelettes en carbone dans la gamme C8 – C20 (Attwood et Florence, 1983 ; Karsa, 1989). Les groupements polaires sont principalement des fonctions glycol polyéthyléniques. Ils ont l'avantage d'être compatibles avec tous les autres types de tensioactifs et leurs propriétés sont généralement non affectées par le pH (Attwood et Florence, 1983). Les tensioactifs non-ioniques sont ajoutés à des doses de 10 à 20 $mg.L^{-1}$. Ils endommagent la cellule en réduisant sa perméabilité, rompent le débit normal de nutriments dans la cellule et l'émission des déchets, causant la mort de l'organisme (Cloete et al., 1992 ; Strauss et Puckorius, 1984). Les principaux agents non-ioniques utilisés sont : le n-octyl glucoside, le triton (octylphénoxypolyéthoxyéthanol) et l'éther cétylique polyoxyéthlène.

Les tensioactifs cationiques : Ils sont principalement constitués par des ammoniums quaternaires. Ils s'adsorbent sur la membrane de la cellule et forment une liaison électrostatique avec la charge négative de la paroi cellulaire (Cloete et al., 1992 ; Strauss et Puckorius, 1984). De telles liaisons créent ainsi un stress au microorganisme le conduisant à sa lyse par dénaturation des protéines. La perméabilité de la paroi cellulaire est ainsi perturbée, réduisant la consommation de nutriments essentiels au maintien de la vie de la cellule (Strauss et Puckorius, 1984). Les ammonium quaternaires sont rarement utilisés seuls lors d'un traitement car ils perdent leur activité dans les systèmes fortement encrassés et réagissent avec des cations divalents (Strauss et Puckorius, 1984). Ils sont souvent additionnés en mélange avec un biocide et/ou un tensioactif anionique. Ces combinaisons sont souvent plus efficaces pour le contrôle de l'encrassement biologique que chaque composé pris séparément (Poulton, 1993).

III. Procédés d'oxydation avancée

Face aux inconvénients liés aux traitements physiques et chimiques exposés précédemment, les procédés d'oxydation avancée (POA) se sont développés. Il s'agit de traitements fonctionnant dans des conditions de température et pression habituellement rencontrées dans le milieu ambiant et conduisent à la production d'un oxydant secondaire plus puissant que le primaire (Glaze et al., 1987). L'oxydation est principalement liée à la formation de radicaux hydroxyles qui présentent un des potentiels d'oxydation les plus forts (Tableau 2) conduisant à la minéralisation complète des contaminants, de la matière organique…

Tableau 2 : Potentiel d'oxydation (Parsons et Williams, 2004)

Espèces	**Potentiel d'oxydation (V)**
Fluor	3,03
Radical hydroxyle	2,80
Oxygène atomique	2,42
Ozone	2,07
Peroxyde d'hydrogène	1,78
Radical perhydroxyle	1,70
Permanganate	1,68
Acide hypobromeux	1,59
Dioxyde de chlore	1,57
Acide hypochloreux	1,49
Chlore	1,36

Les POA existants sont nombreux. D'une manière générale, ils mettent en œuvre une activation chimique, photochimique ou catalytique afin d'activer l'ozone ou le peroxyde d'hydrogène, induisant la formation de radicaux hydroxyles. Ils peuvent être divisés en 4 groupes différents :

- Procédés d'oxydation chimique en phase homogène : H_2O_2/Fe^{2+} ; H_2O_2/O_3.
- Procédés photochimiques et photocatalytiques en phase homogène et/ou hétérogène : H_2O_2/UV ; O_3/UV, $Fe^{2+}/H_2O_2/UV$; TiO_2/UV.
- Procédés d'oxydation sonochimiques : US/H_2O_2 ; US/O_3.
- Procédés d'oxydation électrochimiques.

Ces procédés ont trouvé des champs d'application très variés dans le traitement de l'eau de consommation et des eaux usées (Tableau 3). Vu le nombre important de domaines d'utilisation, il semble alors envisageable d'appliquer de tels traitements dans la thématique du traitement de l'eau de tours aéroréfrigérantes. Cependant, une optimisation des conditions d'application (prise en compte de la qualité de l'eau,

paramètres physico-chimiques, objectifs à atteindre) est nécessaire car ces procédés sont connus pour avoir une consommation énergétique importante (Song et al., 2008).

Tableau 3 : Applications des POA (Parsons et Williams, 2004)

Eaux souterraines	Eaux usées industrielles
Odeur et COV	Boues industrielles
Eau de surface	Eaux usées domestiques
Piscines	Lixiviats
Recyclage de l'eau	Boues domestiques
Désinfection	Eau ultrapure

Dans le cadre de cette étude, il est envisagé l'utilisation du peroxyde d'hydrogène couplé aux ultraviolets. Face à l'ozone, le peroxyde d'hydrogène présente des avantages non négligeables pour une application industrielle : il n'est pas généré *in situ*, est facile de stockage et de transport, et ne présente pas de problèmes de transferts de masse (Aleboyeh et al., 2003 ; Gogate et Pandit, 2004a ; Legrini et al., 1993). Ainsi, il ne sera présenté que le procédé H_2O_2/UV (peroxyde d'hydrogène photochimique) au travers de son impact sur la matière organique dissoute (utilisation d'eaux de surface ou de consommation dans les TAR) et sur les microorganismes (potentiel de désinfection).

III.1. Radicaux hydroxyles

Les radicaux hydroxyles sont des espèces – hautement réactives malgré une durée de vie courte (de l'ordre de la microseconde) – capables de réagir rapidement et de manière non sélective sur la plupart des composés organiques. Cependant, ils réagiront plus rapidement avec les liaisons insaturées comme les triples et doubles liaisons carbone-carbone avant les liaisons simples de type $C-C$ ou $C-H$ (Buxton et al., 1988). Ils permettent notamment l'ouverture des cycles aromatiques. Présentant un caractère électrophile marqué, les composés substitués par des groupements donneurs d'électrons réagiront plus rapidement. En effet, les noyaux aromatiques porteurs d'un groupement donneurs d'électrons ($-OH, -NH_2$…) comme le phénol ou l'aniline réagissent plus rapidement que les cycles porteurs d'un groupement attracteurs d'électrons ($-NO_2, -COOH$…) comme le nitrobenzène ou l'acide benzoïque (Doré, 1989).

III.1.1. Mécanismes de réaction des radicaux hydroxyles

Les radicaux hydroxyles réagissent sur les composés organiques selon trois mécanismes principaux (Legrini et al., 1993) ([45] à [47]) :

- par addition électrophile sur le composé organique R :

$$R + {}^{\bullet}OH \rightarrow (ROH^{\bullet}) \rightarrow \text{produits hydroxylés} \qquad [45]$$

- par substitution d'un atome d'hydrogène :

$$RH_2 + {}^{\bullet}OH \rightarrow (RH^{\bullet}) + H_2O \rightarrow \text{produits oxydés} \qquad [46]$$

– par transfert d'électron :

$$R - H + {}^{\bullet}OH \rightarrow RH^{\bullet+} + OH^{-} \qquad [47]$$

Les radicaux organiques formés peuvent par la suite réagir avec un autre oxydant moléculaire présent en solution (réaction de propagation – [48] et [49]) ou encore, réagir avec d'autres radicaux (réaction de terminaison – [50] et [51]). Par de telles réactions radicalaires, il est alors possible d'oxyder la plupart des polluants organiques jusqu'à leur minéralisation complète (H_2O et CO_2).

Propagation	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow\rightarrow R(-H^{+}) + HO_2^{\bullet}$	[48]
	$R^{\bullet} + O_2 \rightarrow R - OO^{\bullet} \rightarrow\rightarrow R - O^{\bullet}$	[49]
Terminaison	$R^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow R - R$ (absence d'oxygène)	[50]
	$R^{\bullet} + {}^{\bullet}OH \rightarrow R - OH$	[51]

Dans le cas de la matière organique naturelle, les radicaux hydroxyles réagiront d'abord avec les composés à haut poids moléculaire, car ils tendent à être de nature plus aromatique et donc à présenter un nombre de sites de réactions plus important (Lamsal et al., 2011 ; Thomson et al., 2004 ; Westerhoff et al., 1999b). Il sera alors formé des composés de plus petits poids moléculaires et davantage biodégradables (aldéhydes, acides carboxyliques) (Sarathy et Mohseni, 2007). Ces derniers pourront alors être minéralisés.

Le devenir des contaminants dépend de la durée d'application du traitement d'oxydation avancée (Song et al., 2008). Dans le cas de fortes conditions d'oxydation avancée (temps d'irradiation longs, fortes concentrations), il y aura minéralisation totale (Kleiser et Frimmel, 2000 ; Thomson et al., 2004) et donc destruction des composés parents aussi bien que des sous-produits formés au cours du procédé (Shemer et Linden, 2007a). Pour des applications moins poussées, les composés seront simplement oxydés, et selon l'eau traitée, il faut alors prendre en considération le devenir et la possible toxicité de ces produits (Wols et Hofman-Caris, 2012). Il est donc nécessaire d'optimiser les procédés selon les objectifs à atteindre.

III.1.2. Radicaux hydroxyles et microorganismes

Les radicaux hydroxyles ne sont pas les seuls présents. En effet, il est également possible de rencontrer les radicaux peroxyles $HO_2^{\bullet}$ [48]. L'ensemble de ces radicaux formés constitue un stress oxydatif pour les cellules. Bien que de telles espèces soient présentes dans les cellules, mais contrôlées au travers d'enzymes (par exemple, catalase, peroxydase, superoxyde dismutase rencontrées dans le cas du peroxyde d'hydrogène (Fiorenza et Ward, 1997 ; Storz et al., 1987)), la création et donc la présence de radicaux supplémentaires en dehors des cellules peut conduire à une plus grande efficacité de désinfection (Rincòn et Pulgarin, 2006). A ce phénomène s'ajoute la présence d'espèces pouvant diffuser au sein des cellules (peroxyde d'hydrogène, ions Fe^{2+}) qui conduiront à la formation de radicaux supplémentaires directement au sein des cellules (Spuhler et al., 2010).

Les radicaux formés à dans le milieu environnant attaquent – en premier lieu – l'extérieur de la membrane par oxydation, formant de fines pores à l'origine de sillons. Les radicaux peuvent alors pénétrer au travers de la fine couche de peptidoglycanes des

bactéries Gram-négatives (cas de *Legionella*) atteignant alors la membrane cytoplasmique. Après peroxydation des lipides de cette dernière (Coyle et Puttfarcken, 1993), les radicaux se trouvent alors à l'intérieur de la bactérie et peuvent commencer à oxyder les composés intracellulaires. Leurs présences modifient le potentiel oxydant intracellulaire, empêchant ainsi le fonctionnement normal de certaines enzymes et les réactions d'oxydoréduction biochimiques comme la respiration (Maness et al., 1999 ; Storz et al., 1987). De tels effets conduiront alors à la lyse du microorganisme. Cependant, les radicaux ayant un temps de vie très court, ces réactions ne pourront se produire qu'à proximité de leur lieu de formation.

III.1.3. Pièges à radicaux

La présence de certains composés dans l'eau à traiter limite l'action de ces radicaux conduisant à une perte d'efficacité. Dans le cas des eaux naturelles, les ions bicarbonate [52], carbonate [53], hydrogénophosphate [54] jouent un tel rôle (Doré, 1989 ; Liao et Gurol, 1995 ; Weeks et Rabani, 1966) :

$$HCO_3^- + {}^\bullet OH \rightarrow OH^- + HCO_3^\bullet \qquad k = 1{,}5 \times 10^7 M^{-1}.s^{-1} \qquad [52]$$

$$CO_3^{2-} + {}^\bullet OH \rightarrow OH^- + CO_3^{\bullet -} \qquad k = 4{,}2 \times 10^8 M^{-1}.s^{-1} \qquad [53]$$

$$HPO_4^{2-} + {}^\bullet OH \rightarrow OH^- + H_2PO_4^{\bullet -} \qquad [54]$$

Les radicaux formés peuvent réagir avec les composés organiques. Cependant, ces réactions sont plus sélectives qu'avec les radicaux hydroxyles et présentent des constantes cinétiques plus faibles (Chen et Hoffman, 1974 ; Tuhkanen, 2004).

III.2. Procédé H_2O_2/UV

Le procédé H_2O_2/UV s'emploie dans de nombreux domaines :

- la décoloration des eaux contenants des colorants textiles (Aleboyeh et al., 2003 ; Schrank et al., 2007) ;
- l'élimination des perturbateurs endocriniens (Chen et al., 2007 ; Rosenfeldt et Linden, 2004), des hydrocarbures aromatiques polycycliques (Shemer et Linden, 2007a, 2007b ; Vilhunen et al., 2010), des pesticides et herbicides (Kruithof et al., 2007), des produits pharmaceutiques (Rivas et al., 2011), des composés organiques volatils (Vilhunen et al., 2010) ; mais aussi des solvants organiques, additifs d'essence et composés organiques chlorés (Song et al., 2008).

III.2.1. Photolyse du peroxyde d'hydrogène

La photolyse du peroxyde d'hydrogène conduit à une coupure homolytique de la liaison $O-O$ conduisant à la formation de deux radicaux hydroxyles [55] (Baxendale et Wilson, 1957) qui participent également, par des réactions secondaires, à la décomposition du peroxyde d'hydrogène ([56] à [61])(Buxton et al., 1988) :

Initiation $\quad H_2O_2 \xrightarrow{h\nu} 2\ {}^\bullet OH \qquad [55]$

Propagation $\quad H_2O_2 + {}^\bullet OH \rightarrow H_2O + HO_2^\bullet \qquad k = 2{,}7 \times 10^7 M^{-1}.s^{-1} \qquad [56]$

$$H_2O_2 + HO_2^\bullet \rightarrow {}^\bullet OH + H_2O + O_2 \qquad [57]$$

$$^\bullet OH + HO_2^- \rightarrow HO_2^\bullet + OH^- \qquad k = 7{,}5 \times 10^9 M^{-1}.s^{-1} \qquad [58]$$

Terminaison $2HO_2^{\bullet} \rightarrow H_2O_2 + O_2$ $k = 8{,}3 \times 10^5 M^{-1}.s^{-1}$ [59]

$^{\bullet}OH + HO_2^{\bullet} \rightarrow H_2O + O_2$ $k = 7{,}1 \times 10^9 M^{-1}.s^{-1}$ [60]

$2\ ^{\bullet}OH \rightarrow H_2O_2$ $k = 5{,}3 \times 10^9 M^{-1}.s^{-1}$ [61]

Théoriquement dans le procédé H_2O_2/UV, plus la concentration en peroxyde d'hydrogène augmente, plus la concentration en radicaux hydroxyles sera importante, ce qui permet de dégrader plus rapidement le composé visé. Cependant, il existe une concentration optimale en peroxyde d'hydrogène car en présence d'une trop grande quantité, il agira comme un piège à radicaux en réagissant avec $^{\bullet}OH$ [56]. Il se formera alors le radical peroxyle $HO_2^{\bullet}$ qui s'avère être moins réactif. Cet effet est régulièrement mis en avant lors de l'optimisation du procédé (Gogate et Pandit, 2004b ; Toor et Mohseni, 2007 ; Wang et al., 2000).

Le coefficient d'extinction molaire du peroxyde d'hydrogène à 254 nm est de 19,6 $M^{-1}.cm^{-1}$ ce qui est faible (pour comparaison, ε_{254nm} = 3300 $M^{-1}.cm^{-1}$ dans le cas de l'ozone). Ainsi pour générer suffisamment de radicaux hydroxyles dans une solution qui contient de forts absorbeurs de photons, la concentration en peroxyde d'hydrogène devra être importante. Dans les systèmes H_2O_2/UV, les lampes UV principalement employées sont à basse pression de mercure avec un pic d'émission à 254 nm. Le maximum d'absorbance du peroxyde d'hydrogène étant à 220 nm, il sera nécessaire avec l'utilisation de telles lampes d'appliquer des concentrations en peroxyde d'hydrogène plus importantes afin de générer suffisamment de radicaux hydroxyles (Tuhkanen, 2004). L'utilisation de lampes UV haute intensité ou encore à moyenne pression permet également de surmonter la faible absorptivité du peroxyde d'hydrogène rencontrée à 254 nm.

La photolyse du peroxyde d'hydrogène est favorisée en milieu basique par (Baig et Mouchet, 2010 ; Doré, 1989 ; Glaze et al., 1987 ; Guittonneau et al., 1988) :

- un coefficient d'absorption molaire plus élevé pour l'anion hydroperoxyde ([62]) à 253,7 nm (ε = 240 $M^{-1}.cm^{-1}$).

$$H_2O_2 + H_2O \rightleftarrows H_3O^+ + HOO^- \qquad pK_a = 11{,}6 \quad [62]$$

- la réaction de dismutation ([63]) au cours de laquelle le peroxyde d'hydrogène est décomposé avec une vitesse maximale lorsque pH = pK_a.

$$H_2O_2 + HOO^- \rightarrow H_2O + O_2 - HO^{\bullet} \qquad [63]$$

III.2.2. Mécanisme réactionnel d'oxydation par H_2O_2/UV

Le mécanisme réactionnel engagé pour l'oxydation de substrats organiques suivant le procédé H_2O_2/UV peut être synthétisé de la manière suivante (Figure 16) :

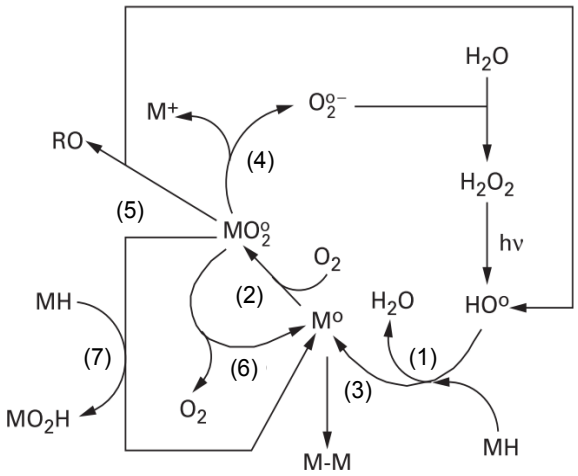


Figure 16 : Mécanisme d'oxydation du procédé H_2O_2/UV (Baig et Mouchet, 2010)

Le substrat de départ, noté MH, peut correspondre à un composé saturé de type RH, ou bien au radical organique ($ROH^{\bullet}$) formé par l'addition électrophile de $^{\bullet}OH$ sur une molécule insaturée [45]. Les radicaux hydroxyles générés par photolyse du peroxyde d'hydrogène réagissent par élimination d'hydrogène pour former le radical $M^{\bullet}$ (1). Ce radical est rapidement oxydé par l'oxygène dissous en un radical peroxyle $MO_2^{\bullet}$ (2) ou se recombine (pour une concentration locale élevée) pour donner un dimère (3). Le radical peroxyle $MO_2^{\bullet}$ peut alors évoluer par :

- hétérolyse en cation organique et anion superoxyde (4) ;
- recombinaison et homolyse en radical hydroxyle et composé carbonylé (5) ;
- libération d'oxygène (6) ;
- capture d'un atome d'hydrogène et propagation du cycle d'oxydation (7).

Cependant, certains composés ne réagiront pas seulement avec les radicaux créés par la photolyse du peroxyde d'hydrogène, d'autres pourront être directement photolysés par les UV (aromatiques) ou réagir avec le peroxyde d'hydrogène (phénols) (Liao et Gurol, 1995). Il s'agit d'un des avantages d'utiliser un traitement couplé, où les caractéristiques de chacun des traitements sont conservées et amplifiées par leur présence simultanée.

III.2.3. H_2O_2/UV et matière organique

La matière organique naturelle (MON), mais aussi les contaminants présents et absorbant l'irradiation UV sont un inconvénient à ce traitement car ils entrent en compétition avec le peroxyde d'hydrogène quant à l'absorption des photons, conduisant alors à des divergences entre l'énergie allouée à la photolyse directe et indirecte (Rosenfeldt et Linden, 2004). En effet, le taux de formation des radicaux hydroxyles est limité par la faible absorption de la radiation à 254 nm par le peroxyde d'hydrogène, et le sera d'autant plus que la matière organique et/ou les contaminants agiront comme filtre interne (Legrini et al., 1993). Cependant, cet effet sera plus important en début de traitement (Audenaert et al., 2011). En effet, par la suite, avec les changements structurels induits à la matière organique, la transmittance du milieu et donc l'absorption des UV changera progressivement ce qui augmentera le flux reçu (Rosenfeldt et Linden, 2004 ; Song et al., 2008), permettant alors la minéralisation (Audenaert et al., 2011).

L'application du traitement conduira – comme il a pu l'être vu précédemment – à des composés de poids moléculaires plus faibles et des composés plus hydrophiles et biodégradables. Il est alors possible de rencontrer des acides oxalique et formique, des aldéhydes (formaldéhydes et acétaldéhydes), des cétones et/ou du dioxyde de carbone (cas d'une minéralisation complète) (Corin et al., 1996 ; Kleiser et Frimmel, 2000 ; Sarathy et Mohseni, 2009). Il est également possible d'observer la libération de métaux suite à la photodégradation des sites MON-métaux qui peuvent être présents (Parkinson et al., 2001). Il semblerait d'ailleurs que la complexation de métaux sur les molécules humiques rendent sa dégradation et sa minéralisation plus difficiles (Liao et al., 2001).

Le traitement H_2O_2/UV peut-être envisagé en pré-oxydation lors de traitement d'eau de surface ou souterraine dans le cadre de sa potabilisation (comme c'est déjà le cas, en Hollande par exemple (Kruithof et al., 2007)). Il s'avère qu'un tel traitement, s'il n'est pas appliqué suffisamment longtemps, entraînent une augmentation des potentiels de formation de trihalométhanes (THM), d'acides haloacétiques (AHA) et de composés organohalogénés adsorbables (AOX) (Kleiser et Frimmel, 2000 ; Toor et Mohseni, 2007), ce qui peut avoir un effet négatif si une chloration est utilisée ensuite pour son caractère de rémanence. Cependant, ces potentiels de formation diminuent si le traitement est appliqué d'une manière plus longue, avec des doses UV suffisantes, soit 1000 $mJ.cm^{-2}$ pour les THM et 500 $mJ.cm^{-2}$ pour les AHA (Sarathy et Mohseni, 2010).

III.2.4. H_2O_2/UV et microorganismes

L'irradiation UV ou le traitement d'oxydation par le peroxyde d'hydrogène sont deux procédés de désinfection. Ces deux traitements présentent des inconvénients quant à leurs effets de désinfection avec la mise en place possible de processus de réparation des dommages qu'ils causent, comme la photoréactivation et la réparation 'thermique' dans le cas des UV, ou bien le développement d'enzymes catalase, peroxydase et la production d'antioxydants pour le traitement au peroxyde d'hydrogène. Dans le cas d'une utilisation couplée de ces deux moyens de désinfection, la mise en place de telles réparations semble plus difficile à cause des dommages multiples causés (Koivunen et Heinonen-Tanski, 2005), permettant probablement l'élimination d'une gamme plus large de microorganismes que celle possible par l'utilisation d'une seule technique. En effet, certains microorganismes ne sont résistants qu'à une seule des deux techniques appliquées (Koivunen et Heinonen-Tanski, 2005). De plus, la photolyse du peroxyde d'hydrogène conduit à la formation de radicaux hydroxyles qui devraient permettre d'augmenter le stress oxydatif déjà créé par H_2O_2 seul.

Néanmoins, il faut garder à l'esprit que ce traitement couplé conduit à la formation de composés plus biodégradables, comme l'atteste certaines études où une augmentation des teneurs en carbone organique dissous biodégradable et/ou carbone organique assimilable est observée (Liu et al., 2002 ; Thomson et al., 2004 ; Toor et Mohseni, 2007). Ces composés seront alors des sources potentielles de nutriments pour les microorganismes et leur développement.

Les différentes études menées à ce sujet montrent des résultats différents quant à l'efficacité du traitement H_2O_2/UV. Bayliss et Waites (1979) montrent que le couplage est 2000 fois plus efficace que les UV seuls sur les spores de *Bacillus subtilis*. Un effet synergique est également observé chez *Escherichia coli* avec des concentrations de

peroxyde d'hydrogène comprises entre 0,2 et 20 mg.L^{-1} et l'utilisation d'UV-A (Hartman et Eisenstark, 1978), mais aussi avec des concentrations inférieures à 10 mg.L^{-1} de peroxyde d'hydrogène et une irradiation solaire (Suntest) (Rincòn et Pulgarin, 2004). L'étude menée par Mamane et al. (2007) montrent une inactivation plus importante des phages MS2 (2,5-log supplémentaire) et T7 (1-log supplémentaire) mais pas des phages T4 et des bactéries *Escherichia coli* (pas d'abattement supplémentaire) par le couplage H_2O_2/UV (25 mg.L^{-1} et UV-A et UV-B) que l'emploi des UV seuls. Les inactivations obtenues sont également plus importantes dans le cas d'une eau naturelle que lors des essais en solutions tamponnées, et ce, malgré la présence de pièges à radicaux. Il semblerait que cette efficacité supplémentaire soit liée à la présence d'autres espèces radicalaires réactives qui ne se forment pas en milieu tamponné. Le traitement H_2O_2/UV-A montre un effet bénéfique pour l'inactivation des bactéries avec un effet synergique des deux procédés. En effet, les UV-A inactiveraient les antioxydants cellulaires mis en place par la présence de peroxyde d'hydrogène (catalase, peroxydase, superoxyde dismutase) et l'augmentation de sa concentration dans le milieu conduit, après diffusion au sein des cellules (Halliwell et Gutteridge, 1984 ; Imlay, 2008), à une concentration intracellulaire plus importante (Spuhler et al., 2010). Cette teneur en peroxyde d'hydrogène conduirait à la formation de radicaux supplémentaires mais réagirait aussi avec les ions Fe^{2+} présents dans les cellules conduisant à un procédé Fenton (Imlay et al., 1988 ; Spuhler et al., 2010).

Certaines études menées avec l'utilisation d'UV-C montrent des résultats tout autres. Selon Labas et al. (2009), l'inactivation de 99,99% d'*Escherichia coli* par le couplage H_2O_2/UV-C est atteinte après un temps nettement supérieur à celui obtenu par les UV-C seuls. En effet, avec une lampe de 15 W, l'irradiation UV-C pendant 10 secondes permet un abattement de 4-log. Mais au bout d'un même temps d'application du traitement, après ajout de 90 mg.L^{-1} de peroxyde d'hydrogène, l'inactivation n'est plus que de 3,5-log, et seulement 2-log avec 215 mg.L^{-1}. De tels résultats sont surprenants et les hypothèses avancées quant à ces observations sont le rôle de filtre interne du peroxyde d'hydrogène ou bien la possibilité par les bactéries de former une « coquille protectrice » avec les molécules d'H_2O_2 conduisant à la mise en place plus longue d'une quelconque inactivation. L'étude du traitement H_2O_2/UV-C de Koivunen et Heinonen-Tanski (2005) portent sur *Enterococcus faecalis* et le coliphage MS2 dans une eau simulant une eau usée (fortes concentrations en COT et DCO). Ils mettent en avant peu d'effets synergiques du couplage par rapport à l'utilisation des UV seuls. En effet, le couplage apporte moins d'un log d'inactivation supplémentaire, même avec une concentration en peroxyde d'hydrogène de 150 mg.L^{-1}. Un faible effet supplémentaire est observable sur les phages MS2 mais pas sur *Enterococcus faecalis*. Il faut cependant noter que cette étude utilise de faibles doses UV (8 et 10 mJ.cm^{-2}) comparativement à celles employées en désinfection de l'eau potable (40 mJ.cm^{-2}) ; les transmittances sont peu élevées (60 à 70%) et les temps d'irradiation faibles (10 à 15 minutes). Les résultats montrent pourtant qu'à une dose UV de 8 mJ.cm^{-2}, quelle que soit la concentration en peroxyde d'hydrogène utilisée (3,0 ; 30 et 150 mg.L^{-1}), l'abattement est le même ; alors qu'avec une dose de 10 mJ.cm^{-2}, l'augmentation de la concentration en H_2O_2 conduit à un abattement plus important. Il serait donc important de trouver la concentration en peroxyde

d'hydrogène qui conduit bien à sa photolyse par les UV afin d'induire la formation effective des radicaux hydroxyles.

De récentes études menées par Lakretz et al. (Lakretz et al., 2011a ; Lakretz et al., 2011b) étudient l'influence du couplage H_2O_2/UV sur le potentiel de formation des biofilms. En effet, les traitements sont appliqués sur des suspensions de *Pseudomonas aeruginosa*, où les cellules vivantes restantes sont ensuite mises à incubation à 30°C pendant 24 heures ou plusieurs jours. Les biofilms potentiellement formés à partir de ces bactéries sont observés. Il s'avère que les traitements H_2O_2 (> 10 mg.L^{-1}) ou MP-UV (utilisation de lampes UV à moyenne pression) inhibent la formation de biofilms uniquement sur de courtes périodes (< 24 heures) après application du traitement. En revanche, le couplage H_2O_2/UV empêche la formation de biofilms pour les longues périodes d'incubation (plusieurs jours), et seulement dans le cas où un résiduel de peroxyde d'hydrogène est maintenu (> 10 mg.L^{-1}), et ce même en présence de matière organique naturelle (12,5 mg.L^{-1} de COD). Ces études montrent également que l'utilisation de la totalité du spectre d'émission des lampes MP-UV n'apporte pas d'effets supplémentaires aux UV seuls sur les suspensions de *Pseudomonas aeruginosa* ; alors qu'un effet synergique est obtenu avec des UV dont les longueurs d'onde sont supérieures à 295 nm. Ainsi, l'ajout de peroxyde d'hydrogène en présence d'UV-C ne semble pas montrer un intérêt particulier dans ces études.

L'ensemble de ces études montrent que le traitement H_2O_2/UV est efficace sur l'inactivation des microorganismes. Toutes s'accordent sur le fait qu'un ajout de peroxyde d'hydrogène avec l'utilisation de lampes UV-C ne permet pas un effet synergique visible du couplage car l'efficacité due aux photons émis par les UV-C masque celle liée aux radicaux hydroxyles formés. Cependant, dans le cas d'utilisation de lampes à moyenne pression avec un spectre plus étendu, l'ajout de peroxyde d'hydrogène est jugé comme bénéfique. Concernant les biofilms, la présence d'un résiduel de peroxyde d'hydrogène est montré comme nécessaire car limitant leur formation.

III.2.5. Avantages et inconvénients du procédé H_2O_2/UV

Le procédé H_2O_2/UV permet un abattement important du COT (80-90%) lié à la minéralisation de la matière organique et des contaminants rencontrés dans l'eau à traiter, suite à leur oxydation par les radicaux hydroxyles formés (Baig et Mouchet, 2010). Cependant dans le cas de l'utilisation de lampes UV à faible pression de mercure (émission à 254 nm), l'absorption du peroxyde d'hydrogène est faible et va entrer en compétition avec des composés présents dans l'eau et qui absorbent à cette longueur d'onde (Baig et Mouchet, 2010 ; Poyatos et al., 2010 ; Tuhkanen, 2004), diminuant ainsi l'efficacité du traitement. Mais une application suffisante du couplage permettra la modification de ces composés conduisant à un flux UV de plus en plus disponible pour le peroxyde d'hydrogène. Les temps de réaction sont effectivement longs afin d'obtenir une minéralisation complète (Baig et Mouchet, 2010) et limiter la formation de sous-produits intermédiaires (Sarathy et Mohseni, 2007).

Il s'avère que le peroxyde d'hydrogène peut également avoir un rôle de piège à radicaux à partir d'une certaine concentration (Schrank et al., 2007). Il est donc nécessaire d'optimiser le procédé afin d'utiliser une teneur en peroxyde d'hydrogène adéquate et n'ayant pas d'effets négatifs.

D'autres inconvénients ont pu être rencontrés lors de l'étude individuelle de ces traitements et sont à nouveau rencontrés dans le cadre du couplage, comme ceux liés aux lampes UV (durée de vie, encrassement, vieillissement) (Song et al., 2008).

IV. Bilan

Le traitement H_2O_2/UV est une méthode de désinfection efficace. Cependant, les études rencontrées dans la littérature et appliquant de tels UV sont principalement réalisées sur des suspensions bactériennes de souches sélectionnées, ce qui n'est pas représentatif des conditions réelles trouvées dans l'environnement. Bien que certaines soient effectuées en présence de matière organique, cette dernière n'est pas étudiée simultanément à l'efficacité de désinfection. Malgré une minéralisation possible de la matière organique suite au traitement H_2O_2/UV, il n'y a pas d'informations sur sa potentielle modification ou élimination, qui apporterait pourtant de plus amples informations sur l'efficacité globale du traitement. De plus, aucune étude ne porte sur l'application du couplage sur des biofilms déjà présents et développés dans un système, qui permettrait d'en connaître l'impact.

Il manque parfois, sur certaines études, la définition des doses UV appliquées. Lorsqu'elles le sont, elles paraissent alors bien faibles (8 et 10 $mJ.cm^{-2}$) vis-à-vis de certaines « références » que peuvent être les 40 $mJ.cm^{-2}$ appliqués en eau potable. Les niveaux de concentration en peroxyde d'hydrogène utilisés balaient également une très large gamme avec des résiduels, soit faibles (3 – 10 $mg.L^{-1}$), soit nettement plus importants (> 90 $mg.L^{-1}$). Ces conditions d'application du couplage se réfèrent le plus souvent au traitement continu d'un effluent avec un temps de séjour court et une injection unique en peroxyde d'hydrogène.

Ainsi, bien que les études rencontrées montrent une efficacité variable du couplage H_2O_2/UV-C selon les doses appliquées, il reste potentiellement intéressant notamment pour le traitement de l'eau d'une tour aéroréfrigérante pour lesquels les temps de séjour sont plus longs. L'étude d'une eau chargée, à la fois en matière organique et en présence de microorganismes d'origine environnementale, compléterait également les manques rencontrés dans la littérature.

CHAPITRE 2 : MATERIELS ET METHODES

I. Conception et réalisation d'un pilote de laboratoire

I.1. Description des montages réactionnels

Dans le cadre de ce travail, un pilote de laboratoire a été mis au point afin d'optimiser les modes d'application du traitement H_2O_2/UV (concentration, durée, fréquence d'application, résiduel de peroxyde d'hydrogène dans les purges) notamment grâce à la prise en compte des effets spécifiques sur la destruction du biofilm et sur la prolifération des légionelles. Dans le but d'une transposition au niveau industriel, ce pilote a été conçu de manière à reproduire au mieux le fonctionnement d'une tour aéroréfrigérante, dont différents modules ont été reproduits :

- un réservoir d'eau à traiter en équilibre avec un biofilm,
- un système de traitement constitué d'une injection continue de peroxyde d'hydrogène et d'un module UV dont les caractéristiques techniques sont directement transposables à des systèmes industriels,
- un dispositif permettant de suivre l'efficacité du traitement sur le biofilm.

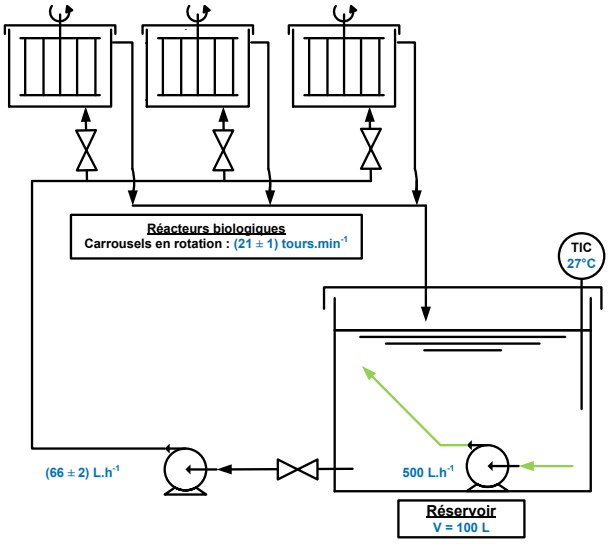
Dans un souci de simplicité, l'échangeur air / eau n'a pas été réalisé. D'un point de vue pratique, le pilote est composé de 2 bancs d'essai indépendants :

- un banc de « référence », sur lequel aucun traitement n'est appliqué (Figure 17a),
- un banc dit de « traitement », avec application, au choix, de l'irradiation UV, de l'oxydation par le peroxyde d'hydrogène ou par le couplage H_2O_2/UV (Figure 17b).

Chaque banc se compose d'un réservoir (bassin de la TAR) recevant l'eau à traiter. Cette eau alimente en continu 3 réacteurs biologiques. Le banc de « traitement » possède une boucle supplémentaire comprenant le réacteur UV et une injection continue de peroxyde d'hydrogène via une pompe doseuse. Le volume total d'eau à traiter est de 100 litres.

L'homogénéisation de l'eau à traiter est assurée soit par une pompe immergée dans le réservoir dans le cas du banc de « référence », soit par la pompe alimentant la boucle de traitement dans le cas du banc « traitement ».

(a) Banc de référence



(b) Banc de traitement

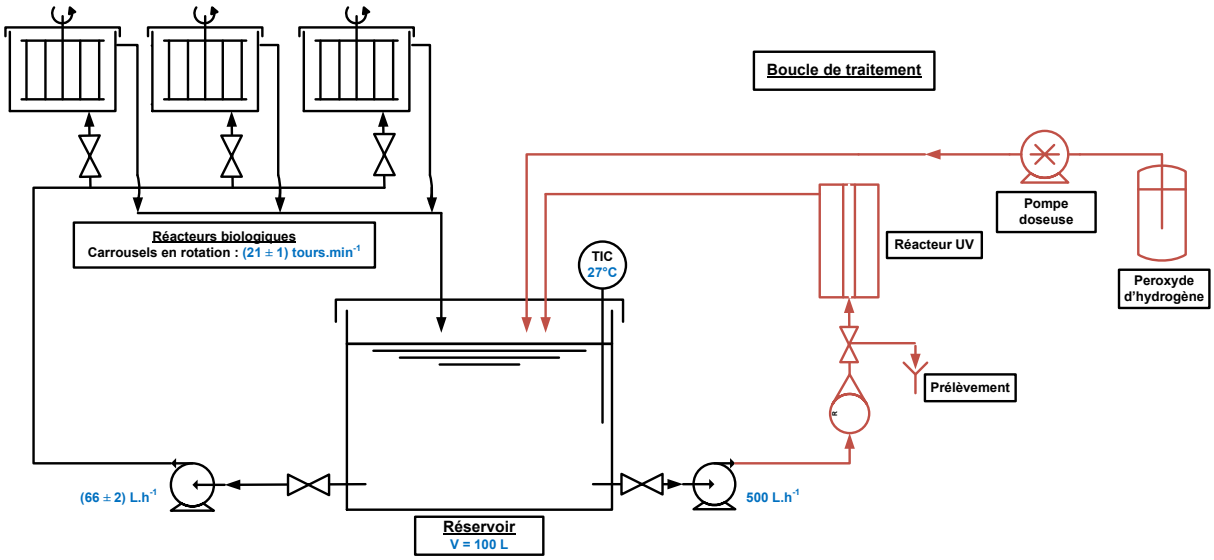


Figure 17 : Schéma du pilote de laboratoire

Le pilote se compose de différents éléments, choisis avec des matériaux inertes aux oxydants afin d'éviter toutes attaques du peroxyde d'hydrogène et tous phénomènes de corrosion.

❖ Réacteur et lampes UV

Le réacteur UV, de la société BIO-UV, est composé d'un corps cylindrique en inox, avec en son centre une lampe UV logée dans une gaine en quartz. L'arrivée d'eau se fait par le bas du réacteur, parallèlement à l'axe du corps cylindrique, et ressort perpendiculairement à l'écoulement en haut du réacteur. Le réacteur UV présente un volume de 1,9 litres et une surface d'irradiation de 697 cm². La configuration du réacteur UV est en Annexe C.

La lampe employée, lors des différents essais, est une lampe UV à basse pression de mercure Lightech de 33 $W_{électrique}$ (8,5 $W_{UV\text{-}C}$) émettant à 254 nm (Tableau 4).

Tableau 4 : Caractéristiques de la lampe UV

Désignation	Longueur d'onde d'émission (nm)	Diamètre du tube (mm)	Puissance électrique (W)	Courant (mA)	Tension (V)	Sortie UV		Durée de vie (h)
						µW. cm^{-2}	W	
Lightech GPH330T5L/HO/4 Coated	254	15	33	600	63	85	8,5	13 000

❖ Réacteurs biologiques

Pour chaque banc, 3 réacteurs biologiques en PVC (triplicat pour l'analyse) fonctionnent en parallèle (Figure 18). Chacun comprend un carrousel (en PVC), sur lequel sont placées verticalement 10 lames de microscope en verre supportant les biofilms. Un axe central permet une rotation du carrousel à l'aide d'un joint torique et d'un système de poulie (vitesse contrôlée et conservée constante sur l'ensemble des essais). L'eau entre à la base du réacteur au niveau de l'axe de rotation et ressort en haut du réacteur biologique par surverse. Les débits dans chaque réacteur ($Q = 22 \pm 2$ L.h^{-1}) sont contrôlés à l'aide de diaphragmes.

Chaque réacteur biologique, de 1,7 litres, possède une « trappe » sur le couvercle afin de permettre le prélèvement des lames. Ils sont également recouverts d'un tissu noir pour les isoler de la lumière et éviter le développement d'algues au sein du système.



Figure 18 : Un banc de réacteurs biologiques

❖ Pompes centrifuges

Les pompes employées sur ce pilote sont des pompes centrifuges à entraînement magnétique de la marque IWAKI (modèle MD(20RZ)). Leurs corps et leurs turbines sont en polypropylène renforcé en fibre de verre. L'axe et le palier sont respectivement en céramique d'alumine et en polytétrafluoroéthylène (PTFE). Afin d'éviter un phénomène de cavitation et de non-fonctionnement des pompes, elles sont commandées par un relais électrique permettant l'arrêt des pompes pendant 15 secondes toutes les 45 minutes.

Ces pompes sont utilisées d'une part pour alimenter les réacteurs biologiques, et d'autre part pour assurer la circulation de l'eau à traiter dans le réacteur UV. Le débit de

circulation de l'eau dans le réacteur UV a été fixé à 500 $L.h^{-1}$ correspondant à 5 passages d'eau par heure (recommandation du partenaire BIO-UV).

❖ **Pompe doseuse**

La pompe doseuse utilisée est une pompe Gamma L® à membrane de la marque PROMINENT, pour des débits allant jusqu'à 12,3 $mL.min^{-1}$. Le débit est réglable par variation de la membrane (de 30 à 100%) et par la fréquence de battement de cette dernière (jusqu'à 180 impulsions par minute). Le corps de la pompe, la membrane, la tête doseuse, le raccord d'aspiration et de refoulement sont en Téflon®. Les joints sont, quant à eux, en PTFE et les billes en céramique.

❖ **Autres éléments**

Le réservoir est un fût de 120 litres en polyéthylène haute densité. Les tuyaux de raccordement des différents éléments du montage sont en PVC renforcé (polyester tressé, enrobé de PVC transparent). Les vannes employées sont des vannes TOR en PVC.

Le rotamètre AALBORG possède un tube débitmétrique gradué en verre borosilicaté, le support et les raccords sont en laiton ; le flotteur en inox et le joint en Viton®. Une vanne est présente afin de pouvoir aisément régler le débit voulu. Ce rotamètre a été étalonné sur la configuration finale du pilote.

La régulation de la température se fait grâce à un thermostat : la sonde plonge dans un tube en verre contenant un peu d'huile pour conduire la chaleur. L'élément chauffant est un thermoplongeur en silice fondue.

I.2. Caractérisation du pilote

Les deux bancs d'essai fonctionnant en circuit fermé, la détermination des temps de séjour a été réalisée afin de définir le mode d'écoulement de l'eau dans le circuit et identifier s'il y a dans le montage la présence de zones mortes ou de courts-circuits. Ce test est nécessaire avant de réaliser les études cinétiques à différents taux de traitement.

I.2.1. Détermination des temps de séjour

La détermination des temps de séjour a été réalisée en considérant le banc d'essai dans son ensemble avec le fonctionnement de la boucle de traitement chimique et les trois réacteurs biologiques. La boucle de traitement chimique renvoie l'eau pompée dans le réservoir, conservant sa fonction principale d'homogénéisation, tandis que l'eau sortant des réacteurs biologiques est prélevée en totalité pour le suivi de la conductivité.

Le traçage s'effectue par l'injection d'une solution saline (NaCl) fortement concentrée (1 litre à une concentration de 169 $g.L^{-1}$). Le suivi est réalisé par des mesures régulières de conductivité en différents points du système : en surface du réservoir, au point de prélèvement présent sur la boucle de traitement chimique et en sortie de chacun des réacteurs biologiques.

La boucle de traitement chimique permet la réalisation d'une injection échelon en entrée des réacteurs biologiques. Le suivi de la conductivité dans le réservoir et au point de prélèvement P permet de vérifier la réalisation d'une telle injection (Figure 19). La valeur de conductivité obtenue est conforme à l'injection effectuée.

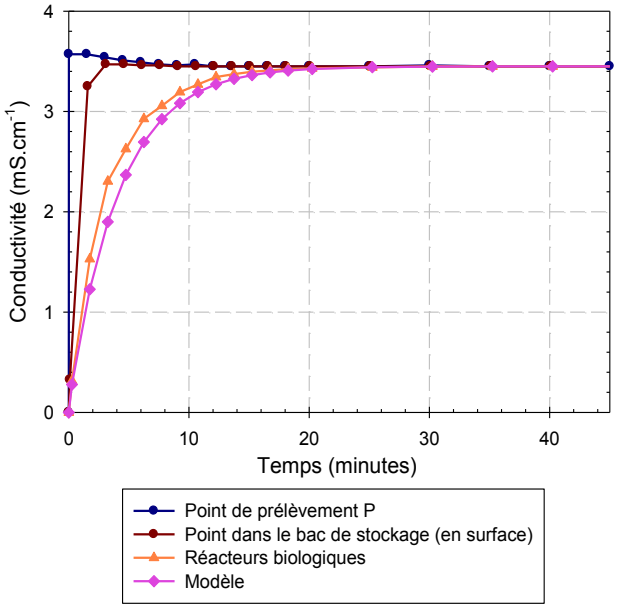


Figure 19 : Distribution cumulée des temps de séjour

En sortie des 3 réacteurs biologiques, les profils de conductivité en fonction du temps sont les mêmes. Une courbe moyenne a ainsi été déterminée afin de pouvoir exploiter les résultats. Une telle réponse correspond à un réacteur parfaitement agité, se définissant selon l'équation [64]. Pour satisfaire cette hypothèse, le temps de séjour moyen $\overline{t_s}$ – déterminé graphiquement à partir de l'intersection entre la tangente à l'origine et la valeur constante de l'échelon – doit être égal au temps de passage – défini comme le rapport entre le volume du réacteur et le débit volumique en sortie de réacteur. Dans notre cas, le temps de séjour moyen est de 4,2 minutes pour un temps de passage de 4,7 ± 0,5 minutes.

$$\chi_{t\ (mS.cm^{-1})} = \chi_{t=0\ (mS.cm^{-1})} \left[1 - exp\left(-\frac{t}{\overline{t_s}}\right)\right] \quad [64]$$

Le tracé de la courbe modèle, selon l'équation [64], permet d'affirmer que chaque réacteur biologique fonctionne comme un réacteur parfaitement agité. Les temps de séjour moyen et de passage des trois réacteurs indiquent que les écoulements sont similaires (aux incertitudes près), permettant de confirmer qu'il n'y a pas de court-circuit ou de volume mort.

I.2.2. Cinétique

Afin de vérifier l'homogénéité du réservoir (réacteur parfaitement agité), une cinétique de photolyse du peroxyde d'hydrogène a été réalisée avec des prélèvements répartis en différents points (Figure 20). Dans ce suivi, les réacteurs biologiques ne sont pas pris en considération.

Les prélèvements sont répartis dans tout le volume du réservoir avec trois points en surface (S1 à S3), trois au fond du bac (P1 à P3), et également un prélèvement au point P, vanne de prélèvement situé à la base du réacteur UV (après purge).

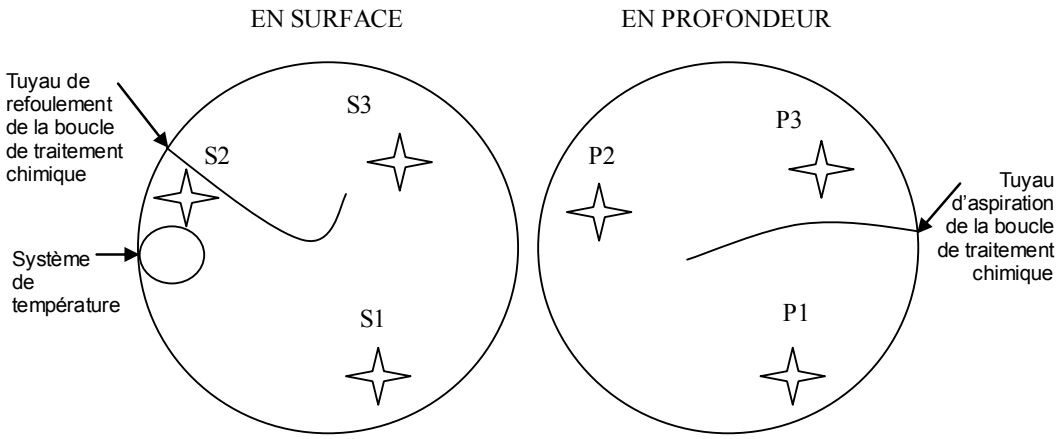


Figure 20 : Répartition des points de prélèvement dans le réservoir

L'évolution de la concentration en peroxyde d'hydrogène en fonction du temps, reportée Figure 21, montre que les points de surface sont identiques au point de prélèvement P (superposition des deux tracés). Il semblerait que les points de prélèvement réalisés au fond du réservoir présentent une concentration légèrement inférieure (2% environ). Cette faible différence permet de considérer le réservoir contenant l'eau à traiter homogène grâce au débit appliqué sur la boucle de traitement.

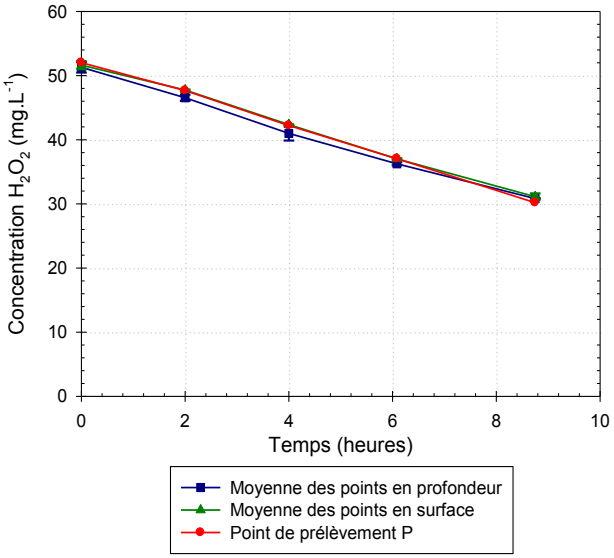


Figure 21 : Evolution temporelle de la décomposition du peroxyde d'hydrogène en différents points du pilote

I.3. Détermination de la puissance lumineuse et dose UV

La puissance lumineuse a été déterminée par actinométrie chimique afin de confirmer les données constructeur (8,5 $W_{UV\text{-}C}$) avant de définir les doses UV appliquées.

I.3.1. Actinométrie

L'utilisation d'un actinomètre, en faibles concentrations dans une matrice réelle, permet de déterminer le flux photonique incident émis par la lampe UV dans la configuration du système (Audenaert et al., 2011). Il permet également la prise en compte des

phénomènes de réflexion, réfraction pouvant avoir lieu dans le réacteur UV. Les actinomètres chimiques sont des systèmes subissant une photolyse pour laquelle le rendement quantique ϕ est connu (Kuhn et al., 2004). Le rendement quantique correspond au nombre total de moles d'actinomètre transformées par rapport au nombre de moles de photons émis à 254 nm et absorbés par l'actinomètre dans le système (Stefan, 2004). Nicole et al. (1990) ont montré que le peroxyde d'hydrogène peut être utilisé comme actinomètre, dont la vitesse de photolyse sous l'action d'un rayonnement monochromatique est donnée par l'équation [65] :

$$-\frac{d[H_2O_2]}{dt} = \phi \times I_{abs} = \phi(I_0 - I_t) = \phi I_0\left(1 - e^{-2{,}303\varepsilon l[H_2O_2]}\right) \qquad [65]$$

où $[H_2O_2]$ concentration en peroxyde d'hydrogène (mol.L^{-1})

ϕ rendement quantique (1 à 254 nm (Baxendale et Wilson, 1957))

I_{abs} flux photonique absorbé (Einstein.L^{-1}.s^{-1})

I_0 flux photonique incident (Einstein.L^{-1}.s^{-1})

I_t flux photonique transmis (Einstein.L^{-1}.s^{-1})

ε coefficient d'extinction molaire (18,6 L.mol^{-1}.cm^{-1})

l lame d'eau irradiée (l = 3 cm)

Dans le cas d'un milieu dilué (loi de Beer-Lambert) et après intégration, l'équation simplifiée devient alors [66] :

$$ln\left(\frac{[H_2O_2]_t}{[H_2O_2]_0}\right) = -\phi \times I_0 \times 2.303 \times \varepsilon \times l \times t = k_{photolyse} \times t \qquad [66]$$

Cette relation permet en traçant $ln\left(\frac{[H_2O_2]_t}{[H_2O_2]_0}\right) = f(t)$ d'obtenir une droite dont le coefficient directeur ($k_{photolyse}$) permet de déterminer le flux photonique incident I_0.

Pour cette étude, le suivi cinétique de la concentration en peroxyde d'hydrogène dans le montage réactionnel a été réalisé en absence et en présence des UV pour des concentrations initiales de 10 ; 30 et 50 mg.L^{-1} (Figure 22). La mesure globale de la disparition de la concentration en H_2O_2 dans le système provient de la somme de la consommation liée à l'autodécomposition du peroxyde d'hydrogène dans le montage ($k_{autodécomposition}$) et à sa photolyse directe ($k_{photolyse}$). En solution diluée, ces deux cinétiques suivent une loi cinétique avec un ordre apparent de 1, ce qui permet de calculer, à partir de la cinétique globale de la réaction ($k_{observé}$ de l'équation [67]), le flux photonique incident :

$$ln\left(\frac{[H_2O_2]_t}{[H_2O_2]_0}\right) = -k_{observé} \times t = -(k_{autodécomposition} + k_{photolyse}) \times t \qquad [67]$$

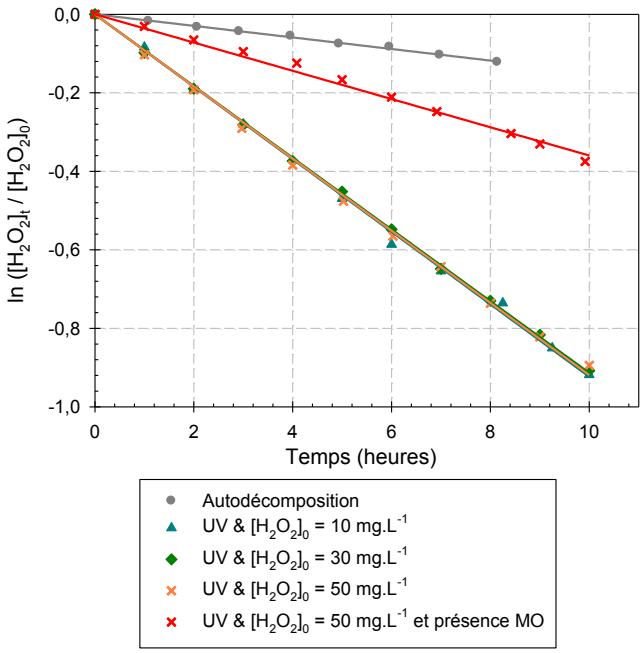


Figure 22 : Photolyse du peroxyde d'hydrogène à 254 nm dans le pilote de laboratoire

Le flux photonique incident moyen est de $(1{,}67 \pm 0{,}01).10^{-7}$ Einstein.L^{-1}.s^{-1}, soit une puissance émise de $(7{,}9 \pm 0{,}1)$ $W_{UV\text{-}C}$. Cette valeur est proche de celle donnée par le constructeur (8,5 $W_{UV\text{-}C}$ soit un écart de 8% environ).

I.3.2. Dose UV

La dose UV est définie par Berson et Sachoux (1985) selon l'équation [68]. Celle-ci prend en compte la transmittance du milieu car la matière organique présente peut absorber une partie du rayonnement incident, ce qui ralentit la vitesse de photolyse du peroxyde d'hydrogène (Karpel Vel Leitner et al., 1992), comme le montre la Figure 22.

$$D = \frac{P}{S} \times t \times T^d \qquad [68]$$

avec

D	dose UV (mJ.cm^{-2})
P	puissance UV émise (mW)
S	surface interne de la chambre d'irradiation (cm^2)
t	temps de séjour (s)
T	coefficient de transmission UV à 254 nm sur 10 mm (-)
d	épaisseur de lame d'eau (cm)

Il est cependant nécessaire de préciser certains termes de cette équation selon la configuration utilisée dans cette étude (réacteur annulaire et système batch).

Dans le cas d'un réacteur annulaire, la dose est calculée pour une particule élémentaire au point le plus éloigné de la lampe (cas d'un régime laminaire). Cependant, le régime est bien souvent turbulent, l'ensemble des particules est alors exposé à des doses UV supérieures à celles théoriquement prévues (Berson et Sachoux, 1985). La dose UV est donc sous-estimée.

Etant donné la configuration du montage réactionnel, le temps de séjour doit prendre en compte le temps de séjour dans le réacteur UV, mais aussi le volume d'eau à traiter (réservoir de stockage) et le temps d'expérimentation selon l'équation [69].

$$t = \frac{Q}{V_{eau\,à\,traiter}} \times t_{réaction} \times \frac{V_{réacteur\,UV}}{Q} = \frac{V_{réacteur\,UV}}{V_{eau\,à\,traiter}} \times t_{réaction} \qquad [69]$$

où

Q	débit de recirculation ($L.s^{-1}$)
$V_{eau\,à\,traiter}$	volume d'eau à traiter (L)
$V_{réacteur\,UV}$	volume du réacteur UV (L)
$t_{réaction}$	durée de l'expérimentation (s)
$\frac{Q}{V_{eau\,à\,traiter}}$	nombre de passage de l'eau à traiter dans le réacteur UV par unités de temps (s^{-1})
$\frac{V_{réacteur\,UV}}{Q}$	temps de séjour de l'eau dans le réacteur UV (s)

La transmittance de l'eau à traiter peut être constante au cours du temps. Cependant, le traitement H_2O_2/UV est connu pour oxyder les composés organiques ; l'absorbance de la solution évoluera donc au cours du temps. Dans cette étude, lors de l'application du couplage, la transmittance de la solution suit une loi exponentielle en fonction du temps. La dose UV se définit alors selon [70] :

$$D = \frac{P}{S} \times \frac{V_{réacteur\,UV}}{V_{eau\,à\,traiter}} \times \int_0^t \left\{ t_{réaction} \times \left[T_{t=0} + a\left(1 - e^{-bt_{réaction}}\right) \right]^d \right\} dt_{réaction} \qquad [70]$$

où

$T_{t=0}$	transmittance initiale de la solution à 254 nm sur 10 mm
a, b	constantes réelles déterminées expérimentalement

Les doses UV calculées pour chacune des expérimentations, selon les conditions de traitement, ont été reportées dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Dose UV moyenne des essais réalisés sur le pilote de laboratoire

Traitement	Transmittance initiale à 254 nm	Constante a	Constante b	Dose UV moyenne après 72 heures de traitement ($J.cm^{-2}$)
Eau du réseau passée sur charbon actif	99%	/	/	0,8
Eau + MO(1) : UV	43%	/	/	5
Eau + MO : H_2O_2/UV $[H_2O_2]_0$ = 50 $mg.L^{-1}$	34%	0,56	0,04	22
Eau + MO : H_2O_2/UV $[H_2O_2]_0$ = 30 $mg.L^{-1}$	27%	0,65	0,03	14
Eau + MO : H_2O_2/UV $[H_2O_2]_0$ = 10 $mg.L^{-1}$	33%	0,60	0,02	10

(1) Matière organique

Ainsi après 3 jours d'application du traitement dans le pilote, et selon les conditions initiales, les doses UV sont comprises entre 10 et 22 J.cm^{-2}. Dans le cas d'une application des UV uniquement, la dose n'est que de 5 J.cm^{-2} en raison de l'effet d'écran exercé par la matière organique.

II. Réalisation des essais

II.1. Réactifs

II.1.1. Réactifs courants

Les réactifs utilisés pour la réalisation de ce travail (sels minéraux, acides, bases, produits organiques divers) sont des produits commerciaux de qualité analytique (Normapur). Ils ont tous été utilisés tel quel sans purification.

Le peroxyde d'hydrogène – de grade technique – stabilisé à 50% a été fourni par la société ARKEMA (nom commercial Albone®). Les solutions diluées ont été préparées dans l'eau ultrapure.

II.1.2. Produits de conditionnement des eaux de refroidissement

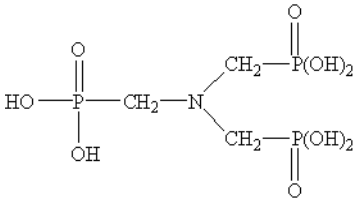
Les additifs étudiés appartiennent à des familles d'inhibiteurs de corrosion et d'entartrage couramment utilisés sur les TAR. Les composés choisis sont un inhibiteur de corrosion cathodique : un sel de zinc, A-REF 610 (polycarboxylate de zinc) de la société Alliance Production ; et deux inhibiteurs mixtes appartenant à la famille des phosphonates : AMP et HEDP, sous les noms commerciaux Dequest 2000® et Dequest 2010® de la société Thermphos. Ils présentent également l'avantage d'être des antitartres.

Ces produits de conditionnement sont préparés dans une eau de réseau passée sur une cartouche de charbon actif, afin d'obtenir des conditions similaires aux essais réalisés sur le pilote de laboratoire.

i. Dequest 2000® (AMP) et Dequest 2010® (HEDP)

La molécule principale du produit Dequest 2000® est l'acide nitrilométhylènetriphosphonique (AMP) de formule chimique $N(CH_2PO_3H_2)_3$. Pour le produit Dequest 2010®, il s'agit de l'acide 1,hydroxyethylidene,1-1-diphosphonique (HEDP) de formule chimique $C_2H_8O_7P_2$ (Figure 23).

(a) acide nitrilométhylènetriphosphonique (AMP)



(b) acide 1,hydroxyethylidene,1-1-diphosphonique (HEDP)

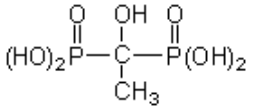


Figure 23 : Formules développées de (a) AMP et (b) HEDP

Ils contiennent également, en quantité moindre, de l'acide phosphonique et de l'eau (Tableau 6).

Tableau 6 : Composition des produits Dequest 2000® et Dequest 2010®

Composés	Teneur (%w/w)	
	Dequest 2000® **AMP**	**Dequest 2010®** **HEDP**
Acide nitrilométhylènetriphosphonique	48 – 52	-
Acide 1,hydroxyethylidene,1-1-diphosphonique	-	58 – 62
Acide phosphonique	4 au maximum	4 au maximum
Eau	complément	complément

Ces produits sont employés en antitartre avec des doses de 1 à 10 $mg.L^{-1}$ et en anticorrosion avec des doses de 10 à 50 $mg.L^{-1}$.

Dans le cadre de cette étude, les doses testées correspondent aux valeurs hautes des gammes définies, soit 10 et 50 $mg.L^{-1}$.

ii. AREF-610

Le produit dénommé A-REF 610 n'a pas de formule chimique connue mais appartient à la famille des polymères carboxyliques (Figure 24).

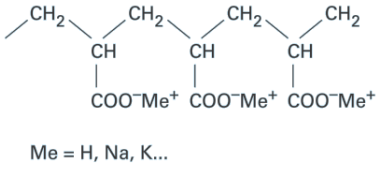


Figure 24 : Formule développée générale des polymères carboxyliques

Il s'agit d'un polycarboxylate de zinc en solution aqueuse, en présence d'acide chlorhydrique (moins de 1%). Du chlorure de zinc est présent à hauteur de 1 à 5%. La partie « zinc » joue un rôle d'inhibiteur cathodique de corrosion, tandis que la partie « polycarboxylate » est un inhibiteur d'entartrage et permet d'augmenter la solubilité du zinc. Les doses généralement appliquées sont de l'ordre de 50 à 100 $mg.L^{-1}$.

Dans le cadre de cette étude, les doses testées sont :

- 70 $mg.L^{-1}$, concentration rencontrée sur le site d'étude de la tour aéroréfrigérante,
- 100 $mg.L^{-1}$, concentration haute de la gamme d'application du produit.

II.2. Caractérisation de l'eau à traiter

Les eaux employées dans le refroidissement des TAR peuvent être diverses : eau de consommation, eau brute (rivière, fleuve…), eau de mer… Pour cette étude et afin d'étudier l'impact du traitement sur la matière organique, le choix s'est porté sur des

valeurs de carbone organique dissous de 3 mg.L^{-1}, rencontrées fréquemment dans le cas d'eau de rivière (Martin-Mousset et al., 1997 ; Thurman, 1985).

Les essais en laboratoire ont été réalisés sur une eau reconstituée permettant d'obtenir une qualité initiale constante sur l'ensemble des essais. L'eau à traiter à été préparée à partir de l'eau du réseau du Bourget-du-Lac (Savoie – France) dont les caractéristiques sont décrites en Annexe D. Avant utilisation, celle-ci passe sur une cartouche de charbon actif afin d'éliminer les traces d'oxydant et de matière organique initialement présents.

Le carbone organique total a été apporté par un mélange de Tryptone et d'Acides humiques, selon un rapport de concentration massique de 1/3 – 2/3. La tryptone correspond à la part totalement biodégradable de la matière organique ajoutée. Elle représente 33% des apports réalisés dans notre étude, ce qui est un peu supérieur aux valeurs généralement rencontrées, qui sont de l'ordre de 15 à 30% (Martin-Mousset et al., 1997 ; Mathieu et al., 1992 ; Sondergaard et Middelboe, 1995 ; Sondergaard et Worm, 2001). Il s'agit d'une tryptone de caséine digérée enzymatiquement (Fluka Analytical), une source riche en acides aminés et peptides. Elle est introduite dans l'eau à traiter à partir d'une solution mère préparée juste avant son utilisation dans l'eau ultrapure.

Les acides humiques utilisés sont d'origine commerciale, Aldrich (un même lot pour l'ensemble des expérimentations : Cat. H1,675-2 ; lot 31620-021). Ils représentent la partie non biodégradable de notre matière organique. Ils ne sont pas directement injectés dans le pilote, mais sont initialement préparés dans une solution d'hydroxyde de sodium à 10^{-4} mol.L^{-1} (eau ultrapure ajustée à pH = 10) afin de permettre une meilleure dissolution de ces composés. Les solutions mères sont filtrées sur tamis à 20 µm et conservées à + 4°C. Elles n'évoluent pas macroscopiquement au cours d'un même essai (vérification du COD et COT en début et fin d'essai). Ces solutions ne sont pas stériles et peuvent apporter des microorganismes au sein du système. Les quantités additionnées, lors des ajouts de matière organique, représentent des teneurs inférieures à :

- 7% de la valeur initiale en ATP présente dans l'eau,
- 4,5% de la valeur initiale en bactéries cultivables présentes dans l'eau,
- 3,5% de la valeur initiale en bactéries totales présentes dans l'eau.

Les caractéristiques physico-chimiques moyennes de l'eau utilisée pour l'ensemble des essais (± un écart-type) sont répertoriées dans le Tableau 7. L'ajout de matière organique (tryptone / acides humiques) est pris en considération. Les teneurs microbiologiques initiales étant disparates d'un essai à l'autre, il est indiqué un encadrement des valeurs rencontrées.

Tableau 7 : Caractéristiques de l'eau reconstituée

Paramètres	Unités	Valeur
pH	unité pH	8,5 ± 0,1
Température	°C	26,9 ± 0,5
Conductivité (25°C)	$\mu S.cm^{-1}$	318 ± 9
Oxygène dissous	$mg.L^{-1}$	8,8 ± 0,5
Carbone Organique Dissous	$mg.L^{-1}$	3,0 ± 0,2
Carbone Organique Total	$mg.L^{-1}$	5,3 ± 0,3
Titre Hydrotimétrique	°F	16,4
Titre Alcalimétrique	°F	0
Titre Alcalimétrique Complet	°F	12,3
Chlore libre	$mg.L^{-1}$	< 0,02
Chlore total	$mg.L^{-1}$	< 0,05
ATP	$pmol.mL^{-1}$	entre 1 à 18
Bactéries cultivables	$ufc.mL^{-1}$	entre 1 à 5.10^5
Bactéries totales	$bactéries.mL^{-1}$	entre 2 et 9.10^6

II.3. Mise en œuvre des essais

La mise en œuvre des essais de traitement passe par trois phases distinctes : une phase d'ensemencement du réacteur, une phase de traitement et une phase de nettoyage.

II.3.1. Phase d'ensemencement du réacteur

L'ensemencement biologique du montage est réalisé par le biais de biofilms développés pendant deux semaines sur des lames de verre dans une source d'eau thermale d'Aix-les-Bains qui n'est plus exploitée (Savoie – France). Cette source présente l'avantage d'avoir des caractéristiques physico-chimiques (température, conductivité…) constantes tout au long de l'année (Tableau 8). De plus, elle est également contaminée par les légionelles.

Tableau 8 : Caractéristiques physico-chimiques de la source

pH	Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	Température (°C)	COD ($mg.L^{-1}$)	COT ($mg.L^{-1}$)	CT ($mg.L^{-1}$)
7,16	766	36	0,48 ± 0,04	0,69 ± 0,05	32 ± 2

Bien que le verre ne soit pas le matériau spécifiquement rencontré dans l'industrie, il présente l'avantage d'être une surface inerte (pas de relargage de métaux ou nutriments)

permettant une meilleure reproductibilité des résultats (Hallam et al., 2001 ; van der Kooij et al., 1995) et ainsi une comparaison entre différentes études.

Après deux semaines d'incubation, les biofilms développés sur les lames de verre sont placés dans les carrousels des réacteurs biologiques alimentés par l'eau à traiter. 12 jours sont nécessaires à l'ensemencement du montage réactionnel. Durant cette période, des ajouts de matière organique (1/3 tryptone et 2/3 acides humiques) sont réalisés tous les deux jours afin de maintenir une concentration en carbone organique dissous de 3 $mg.L^{-1}$, permettant ainsi aux microorganismes de se développer dans le montage et de s'y acclimater.

II.3.2. Phase de traitement

Après ces 12 jours d'acclimatation, le traitement testé est mis en place uniquement sur le banc de « traitement ». Le banc de « référence », permet de vérifier le maintien de la vie microbienne sans traitement (UV et/ou oxydant) et de définir les ajouts de matière organique à réaliser pour maintenir un COD à 3 $mg.L^{-1}$. En effet, le banc de « traitement » reçoit les mêmes ajouts de matière organique que ceux nécessaires au banc de « référence », simulant ainsi une alimentation continue de l'eau à traiter.

II.3.3. Phase de nettoyage

La dernière phase consiste dans le nettoyage du pilote en fin d'essai. Le nettoyage est effectué de la manière suivante :

- désinfection de l'eau par un traitement choc au peroxyde d'hydrogène (forte concentration) avec ou sans les ultraviolets selon le banc utilisé,
- nettoyage manuel de l'ensemble du montage, avec démontage des différentes parties (tuyaux, vannes, gaine en quartz du réacteur UV…),
- rinçage abondant à l'eau afin d'ôter d'éventuels résidus restants dans le pilote.

Malgré cette procédure de nettoyage, le montage n'est pas stérile. Un développement bactérien est observé sur une eau de rinçage après seulement 12 heures de circulation dans le montage (Tableau 9).

Tableau 9 : Evolution des paramètres microbiologiques de l'eau passée sur charbon actif dans un pilote « nettoyé »

Eau passée sur charbon actif	ATP *pmol.mL^{-1}*	Bactéries cultivables *ufc.mL^{-1}*	Bactéries totales *bactéries.mL^{-1}*
En sortie de robinet	0,17 ± 0,03	< LD(1)	$2,7.10^4$
Après 12 heures dans le pilote	1,16 ± 0,27	$1,4.10^5$	$4,7.10^5$

(1) Limite de détection

II.4. Suivi analytique

Différents paramètres ont été suivis dans le cadre de cette étude :

- la physico-chimie de l'eau,
- la microbiologie de l'eau,
- la microbiologie des biofilms.

L'ensemble de ces paramètres et leur fréquence d'analyse sont reportés dans le Tableau 10.

Tableau 10 : Suivi analytique des essais sur pilote de laboratoire

	Paramètres	Phase d'ensemencement	Phase de traitement
Paramètres physico-chimiques de l'eau	pH, Conductivité	début et fin de période	2 à 3 fois sur la période
	Température	1 fois par jour	1 fois par jour
	Oxygène dissous	début et fin de période	2 à 3 fois sur la période
	COD, COT	1 fois par jour	2 fois par jour au début, puis une fois par jour
	Spectres UV	1 fois par jour	2 fois par jour au début, puis une fois par jour
	DCO, DBO	/	début et fin d'essai
	Spectres de fluorescence	/	
Paramètres microbiologiques de l'eau	ATP	/	Référence : Jours J_0, J_2, J_4, J_7, J_{10} Traitement : Jours J_0, J_{4h}, J_{7h}, J_1, J_2, J_4, J_7, J_{10}
	Bactéries totales cultivables	/	
	Bactéries totales	/	
Paramètres microbiologiques des biofilms	ATP	/	Référence et Traitement : Jours J_0, J_{6h}, J_1, J_2, J_3, J_4, J_7, J_{10}
	Bactéries totales cultivables	/	
	Bactéries totales	/	
	Legionella	/	
	Legionella pneumophila cultivables	/	

III. Méthodes d'analyses

Le suivi des essais, sur le pilote de laboratoire ou sur le site d'étude (tours aéroréfrigérantes du Conseil général de l'Isère) a vu la mise en place de différentes analyses physico-chimiques, chimiques ou microbiologiques.

III.1. Analyses physico-chimiques

Les mesures de pH sont effectuées avec une électrode combinée Crison, reliée à un pH-mètre Crison Basic 20. L'étalonnage de l'appareil est réalisé avec des solutions tampons standard (pH 4 et 7).

Les mesures de conductivité et d'oxygène dissous sont effectuées à partir des sondes TetraCon® 325 et CellOx 325 respectivement, reliées à un multimètre de terrain WTW Multi 340i.

La température se mesure grâce à un thermomètre électronique.

Les analyses d'absorption UV ont été réalisées sur un spectrophotomètre UV-Visible Varian, Cary 50.

Les spectres de fluorescence excitation / émission ont été tracés après filtration des échantillons (0,22 µm) sur un spectrophotomètre Varian, Cary Ellipse, selon les caractéristiques suivantes : Excitation de 250 à 400 nm avec $\Delta\lambda$ = 5 nm et Emission de 280 à 600 nm avec $\Delta\lambda$ = 1 nm. Les matrices d'excitation-émission ont, par la suite, été reconstituées à l'aide du logiciel Surfer 8.0.20.0 afin d'obtenir les spectres de fluorescence en 3-D.

III.2. Analyses chimiques

III.2.1. Peroxyde d'hydrogène

Le dosage du peroxyde d'hydrogène résiduel est réalisé selon la méthode de Eisenberg (1943) au sel de titane. Celle-ci repose sur la formation d'un acide pertitanique de couleur jaune suivant la réaction suivante [71] :

$$Ti^{4+} + H_2O_2 + 2\,H_2O \leftrightarrow H_2TiO_4 + 4\,H^+ \qquad [71]$$

Le dosage s'effectue par spectrométrie UV-Visible à 410 nm pour des concentrations comprises entre 2,5 et 55 mg.L^{-1}. Cette mesure n'est pas perturbée par les acides humiques présents dans l'eau à traiter (erreur inférieure à 3% environ).

III.2.2. Dioxyde de chlore

Le dosage du dioxyde de chlore s'effectue après réaction avec le N-diéthyl-p-phénylènediamine (DPD). Il se forme un complexe de couleur rose dont l'intensité est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre de terrain, à la longueur d'onde de 515 nm. La gamme d'analyse s'étend de 0 à 10 mg.L^{-1}.

III.2.3. Carbone organique : COD, COT

Les différentes formes du carbone organique (carbone organique dissous et total) ont été mesurées grâce à un analyseur de Carbone Organique Total Shimadzu – TOC V$_{CSN}$ selon la norme NF EN 1484. L'échantillon subit une combustion oxydative (680°C),

transformant le carbone présent dans l'échantillon en dioxyde de carbone, qui est mesuré par un analyseur de gaz infrarouge non-dispersif. Le COD est analysé après filtration de l'eau sur filtre Whatman en polycarbonate 0,22 µm. La courbe d'étalonnage est réalisée pour des concentrations de carbone organique (dissous et total) comprises entre 0,5 et 5 $mg.L^{-1}$. Les échantillons d'eau sont conservés maximum une semaine à +4°C, acidifiés à pH 2 par de l'acide sulfurique.

III.2.4. Biodégradabilité : DCO et DBO_5

La demande chimique en oxygène est déterminée par la méthode ST-DCO (méthode à petite échelle en tube fermé) après oxydation à chaud en milieu sulfochromique (gamme 2 à 30 $mg.L^{-1}$). Le dosage spectrophotométrique de l'oxydant résiduel est effectué à 345 nm.

La demande biochimique en oxygène a été déterminée par la méthode des dilutions selon la norme NF EN 1899-2. Les concentrations en oxygène dissous sont déterminées avant et après incubation (flacons fermés hermétiquement – 125 mL – dans une enceinte thermostatée à 20°C, à l'obscurité pendant 5 jours) par une sonde de mesure électrochimique d'oxygène.

Ces deux analyses sont réalisées sur des échantillons ne contenant plus de peroxyde d'hydrogène.

III.2.5. Charge ionique de l'eau

Le titre hydrotimétrique (TH) – dureté de l'eau – est mesuré selon la norme NF T90-003, par titrimétrie à l'EDTA avec présence d'un indicateur coloré (le noir Eriochrome T).

Le titre alcalimétrique (TA) et le titre alcalimétrique complet (TAC) sont mesurés selon la norme NF EN ISO 9963-1. Ils sont déterminés par neutralisation d'un volume d'eau par de l'acide chlorhydrique.

Les ions chlorure, nitrate, sulfate et chlorite, chlorate ont été analysés par chromatographie ionique selon les normes NF EN ISO 10304-1 et NF EN ISO 10304-4. Les analyses ont été réalisées par chromatographie ionique (pompe Dionex P680 HPLC) couplé à un détecteur conductimétrique (Metrohm). La solution éluante est un mélange de carbonate de sodium et d'hydrogénocarbonate de sodium. Les solutions étalons sont réalisées dans une eau ultrapure à partir des sels suivants : chlorure de sodium, nitrate de potassium, sulfate de sodium, chlorite de sodium et de chlorate de sodium. Avant injection, les échantillons sont préalablement filtrés sur des filtres Whatman en polycarbonate 0,22 µm.

III.2.6. Analyses spécifiques aux produits de conditionnements

i. Orthophosphates et Phosphore total

Les phosphonates AMP et HEDP peuvent être dosés au travers du phosphore total (Zhang et al., 2010). Leur photodégradation conduit à la formation d'orthophosphates et également d'acide aminométhylphosphonique $H_2N-CH_2-PO(OH)_2$ (Lesueur et al., 2005). Ces deux composés sont donc étudiés par des mesures du phosphore total et des orthophosphates. Les analyses ont été réalisées selon la norme EN 1189 : 1996.

❖ **Orthophosphates**

Les orthophosphates ($H_2PO_4^-, HPO_4^{2-}, PO_4^{3-}$) ont été analysés par une méthode colorimétrique en présence d'ions molybdate et d'antimoine amenant à la formation d'un complexe d'antimonyl-phosphomolybdate. Ce complexe est ensuite réduit par l'acide ascorbique formant un complexe de molybdène de coloration bleue. L'absorbance de cette solution est ensuite mesurée à 890 nm avec une correction à 780 nm sur un spectrophotomètre UV-Visible.

- **Phosphore total**

Le dosage s'effectue après minéralisation de l'échantillon par du peroxodisulfate de potassium $K_2S_2O_8$ conduisant à la formation d'orthophosphates. Les orthophosphates sont ensuite dosés selon la méthode précédemment décrite.

ii. Zinc dissous

Cette méthode est utilisée afin de doser l'additif A-REF 610, un polycarboxylate de zinc.

Le zinc dissous est dosé par absorption atomique de flamme sur un spectrophotomètre d'absorption atomique Shimadzu AA-660. La flamme est un mélange d'acétylène et d'air comprimé ; le détecteur est réglé à une longueur d'onde de 213,9 nm.

Les échantillons à analyser sont préalablement filtrés sur des filtres en polycarbonate de porosité 0,22 µm (Whatman). La matrice de l'échantillon (matière organique et peroxyde d'hydrogène) ne présente aucune interférence sur la mesure.

III.3. Analyses microbiologiques de l'eau et des biofilms

Les analyses microbiologiques ont toutes été réalisées en triplicat. Dans le cas de l'étude sur le pilote de laboratoire, une lame de chaque réacteur biologique est prélevée et analysée ; et trois prélèvements d'eau, espacés de 5 minutes (temps de passage dans un réacteur biologique) sont effectués. Dans le cas de l'étude sur le site du Conseil général, trois lames de verre sont prélevées dans la TAR ; cependant, un seul prélèvement d'eau est effectué mais avec réalisation de triplicat pour les analyses en laboratoire.

Les analyses sur le biofilm ont été réalisées après la dispersion des microorganismes dans une solution aqueuse. Le décrochage du biofilm a été réalisé mécaniquement par grattage de la lame de verre avec l'addition de 6 mL d'eau physiologique (eau + sels minéraux) puis par sonification de la suspension pendant une minute.

III.3.1. ATP

L'adénosine triphosphate est une molécule qui fournit par hydrolyse l'énergie nécessaire au métabolisme des cellules. C'est un indicateur important définissant l'activité microbienne globale du milieu.

Le principe de la mesure de l'ATP repose sur la mesure d'une bioluminescence en présence de Luciférine et de Luciférase (Norme ASTM D4012-81). Dans un premier temps, l'ATP est extrait des cellules vivantes puis stabilisé. Le complexe luciférine-luciférase ajouté transforme l'énergie libérée par l'hydrolyse de l'ATP en lumière, quantifiée par un luminomètre et directement proportionnelle à la quantité d'énergie biologique présente dans l'échantillon. Le résultat obtenu en Unité Relative de Lumière

est retranscrit en pmol.mL^{-1} (eau) ou pmol.cm^{-2} (biofilms) grâce à la réalisation d'un ajout dosé d'ATP sur l'échantillon considéré.

L'ensemble du matériel réutilisable est nettoyé au SDS (dodécylsulfate de sodium) de manière à ôter toutes traces d'ATP résiduelles.

III.3.2. Bactéries cultivables

Les bactéries cultivables sont dénombrées après développement sur un milieu nutritif selon le protocole décrit dans la Norme NF EN ISO 6222. Cette méthode est sélective car elle ne permet pas la détection de certaines formes de bactéries comme les bactéries viables mais non cultivables (VBNC).

Dans le cadre de cette étude, les boîtes de Petri contenant une gélose solide TSA (Tryptone Soja Agar) ont été ensemencées avec 3 dilutions différentes par échantillon analysé. Le dénombrement a été réalisé après 3 à 4 jours d'incubation à 22°C.

III.3.3. Bactéries totales

Les bactéries totales ont été déterminées par comptage au microscope à épifluorescence. Cette méthode est relativement rapide et sensible, mais elle ne permet pas la différenciation des bactéries selon des critères taxonomiques, d'activité métabolique ou de viabilité.

Cette méthode comprend une fixation dans du formol permettant la conservation, un marquage de l'ADN des bactéries avec un composé fluorescent (DAPI : 4',6-diaminodo2-phénylindole), une filtration sous vide sur une membrane en polycarbonate de porosité 0,22 µm (Whatman) et une numération avec un microscope à épifluorescence (Olympus BH-2 – grossissement oculaire x 10) équipé d'un objectif à immersion (x 100) et d'un filtre UV de longueurs d'onde 334-365 nm. Les lames peuvent être conservées au congélateur à -25°C.

III.3.4. Légionelles

Les légionelles sont déterminées selon la norme NF T 90-431 par ensemencement sur milieu sélectif (gélose tamponnée au charbon actif et à l'extrait de levure). Il est réalisé un ensemencement direct de l'eau et, après concentration de l'échantillon par filtration sur membrane en polycarbonate de porosité 0,22 µm, un ensemencement du concentré avant et après décontamination obtenue par la chaleur ou par traitement acide. La phase d'incubation s'effectue à (36 ± 1)°C, pendant 8 à 10 jours (vérification à partir de 3 jours). La présence de *Legionella* est confirmée par repiquage des colonies typiques pour la recherche de bactéries exigeantes en L-cystéine. Pour *Legionella pneumophila*, il est réalisé un essai immunologique sur ces colonies à l'aide d'anticorps spécifiques.

Les légionelles peuvent également être quantifiées par Q-PCR (Quantitative Polymerase Chain Reaction), technique d'analyse de biologie moléculaire permettant la quantification grâce à l'amplification spécifique d'un fragment d'ADN. Elle permet d'obtenir très rapidement des résultats (24 à 48 heures), exprimés en unités génomiques par litre. Elle détecte sans distinction les légionelles intracellulaires (dans les protozoaires ou les algues), les légionelles viables non cultivables et les légionelles mortes (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 2006).

CHAPITRE 3 : ETUDE DU TRAITEMENT H_2O_2/UV SUR UN PILOTE DE LABORATOIRE

La surveillance microbiologique des tours aéroréfrigérantes, imposée par les normes, concerne uniquement la phase aqueuse avec le seul suivi règlementaire des légionelles cultivables. Or, la concentration des microorganismes en suspension ne donne qu'une information biaisée de leur abondance dans les biofilms. Ces derniers sont en effet les principaux foyers de la multiplication des microorganismes et la principale source à partir de laquelle se réalise l'ensemencement de l'eau. La surveillance d'un biofilm est donc impérative pour maîtriser le risque de prolifération des légionelles dans les tours aéroréfrigérantes. Elle nécessitera la mise en place d'un plan de surveillance basé sur l'utilisation de différents indicateurs physico-chimiques et microbiologiques.

Dans cette étude, les performances des traitements ont été évaluées à travers différents paramètres microbiologiques aussi bien sur l'eau circulant dans le montage que sur les biofilms. Les indicateurs pris en considération sont :

- La biomasse bactérienne totale : deux techniques sont classiquement utilisées pour l'estimer : l'une est basée sur le dénombrement des bactéries totales cultivables sur milieux solide ou liquide ; l'autre est basée sur l'observation microscopique des bactéries totales (vivantes, VBNC et mortes) après un marquage de leur ADN.
- L'activité métabolique globale de la biomasse : la production d'ATP en est l'indicateur le plus utilisé. L'intérêt principal de cette technique est sa simplicité et sa rapidité. Celles-ci permettent d'anticiper les dérives d'un procédé et de vérifier l'efficacité des traitements chimiques sur l'activité de la biomasse susceptible d'être favorable à la formation de biofilms.
- L'analyse spécifique des légionelles : deux techniques ont été utilisées pour estimer les légionelles dans l'eau et les biofilms. La première est basée sur le dénombrement sur milieu de culture spécifique (*Legionella*) et la seconde sur des essais immunologiques à l'aide d'anticorps spécifiques (*Legionella pneumophila*).

I. Validité statistique des essais en laboratoire

I.1. Reproductibilité des essais du banc de « référence »

La stratégie de traitement prévue dans cette étude a été, dans un premier temps, de laisser s'adapter le biofilm dans le pilote de laboratoire puis d'appliquer les traitements de désinfection UV, H_2O_2 et H_2O_2/UV. Pour chaque expérience, l'ensemencement des deux bancs d'essai a été réalisé grâce à des lames supportant un biofilm développé pendant deux semaines dans une source d'eau thermale. Des essais préliminaires ont montré qu'il fallait environ 12 jours d'incubation pour coloniser le pilote par la flore bactérienne et obtenir un état stabilisé des biofilms. Au delà de ce temps, le biofilm présente des caractéristiques stables, ce qui permet d'appliquer le traitement d'oxydation dans le pilote dit de « traitement » et de suivre l'évolution de la biomasse sans traitement dans le pilote dit de « référence ».

Les caractéristiques analytiques des deux bancs d'essai – après 12 jours d'incubation – montrent que si les paramètres chimiques (pH, température, COD…) sont bien reproductibles, il n'en est pas de même concernant les paramètres microbiologiques. Il s'avère que, malgré la stabilité de la source thermale d'Aix-les-Bains où les biofilms sont mis en culture, les différents essais montrent une disparité plus ou moins importante des valeurs initiales rencontrées après cette phase d'ensemencement des bancs d'essais (Tableau 11), et ce, principalement pour les biofilms (différence de 2 à 3-log pour les bactéries cultivables et bactéries totales).

Tableau 11 : Etendue des valeurs initiales rencontrées sur le banc de « référence » et le banc de « traitement » après les 12 jours d'ensemencement du pilote

		Référence		**Traitement**	
		mini	**maxi**	**mini**	**maxi**
Eau	pH (-)	8,5 ± 0,1	8,7 ± 0,1	8,4 ± 0,1	8,7 ± 0,1
	Température (°C)	26,5 ± 0,5	27,0 ± 0,5	25,5 ± 0,5	28 ± 0,5
	Conductivité ($\mu S.cm^{-1}$)	285 ± 2	443 ± 9	281 ± 2	454 ± 9
	Oxygène dissous ($mg.L^{-1}$)	8,1 ± 0,1	10,6 ± 1,2	8,2 ± 0,4	10,4 ± 0,4
	COD ($mg.L^{-1}$)	2,3 ± 0,1	3,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	3,3 ± 0,1
	COT ($mg.L^{-1}$)	4,6 ± 0,1	5,9 ± 0,1	4,7 ± 0,1	6,6 ± 0,1
	Carbone minéral ($mg.L^{-1}$)	29,4 ± 0,5	47,7 ± 0,7	34,2 ± 0,4	45,4 ± 0,5
	ATP ($pmol.mL^{-1}$)	1,2 ± 1,1	18,3 ± 5,9	1,3 ± 0,2	18,1 ± 8,3
	Bactéries cultivables ($ufc.mL^{-1}$)	$(1,0 \pm 0,1).10^5$	$(4,8 \pm 0,3).10^5$	$(2,0 \pm 1,4).10^5$	$(5,0 \pm 0,1).10^5$
	Bactéries totales ($bactéries.\ mL^{-1}$)	$(2,3 \pm 0,1).10^6$	$(9,3 \pm 1,6).10^6$	$(1,9 \pm 0,2).10^6$	$(3,0 \pm 0,2).10^6$
Biofilms	ATP ($pmol.cm^{-2}$)	0,16 ± 0,06	27,6 ± 13,3	0,26 ± 0,16	29,4 ± 14,3
	Bactéries cultivables ($ufc.cm^{-2}$)	$(5,9 \pm 2,9).10^3$	$(3,5 \pm 1,3).10^6$	$(1,0 \pm 0,3).10^4$	$(2,6 \pm 0,1).10^6$
	Bactéries totales ($bactéries.cm^{-2}$)	$(1,3 \pm 0,1).10^5$	$(3,3 \pm 2,5).10^7$	$(3,2 \pm 1,4).10^5$	$(4,5 \pm 0,4).10^7$

Afin de s'affranchir de ces différences notables, une analyse de la variance (ANOVA) à un facteur est alors effectuée sur ces données afin d'étudier l'effet du facteur temps sur une variable quantitative, c'est-à-dire le paramètre pris en considération. L'objectif est de pouvoir montrer que le temps n'affecte aucune des variables microbiologiques, ce qui

signifiera que l'évolution relative des différents paramètres étudiés sur les bancs de « référence » peut être considérée comme constante. La réalisation d'une telle étude statistique s'appuie sur des livres généralistes (Dehon et al., 2008 ; Pages, 2010) mais aussi des documents liés à l'utilisation du logiciel libre R (R Development Core Team, 2011) sur lequel les tests ont été effectués (Cornillon et al., 2008 ; Roulin, 2011). Ces derniers ont été réalisés sur chaque essai de référence (8 au total) en utilisant les valeurs absolues de l'ensemble des triplicats obtenus sur la durée totale d'expérimentation pour chaque paramètre étudié (ATP, bactéries cultivables, bactéries totales dans l'eau et les biofilms).

Avant de réaliser une telle analyse, il est nécessaire de s'assurer de la normalité des données (test de Shapiro-Wilk et observation du graphique quantiles-quantiles vis-à-vis de la droite de Henry) et de leur homoscédasticité, c'est-à-dire l'homogénéité des variances (test de Bartlett). Bien que l'ANOVA puisse être réalisée malgré l'absence de normalité de la série de données, celle-ci est nécessaire pour la réalisation du test de Bartlett. Dans ces conditions, il est alors possible de réaliser l'ANOVA, test statistique permettant de savoir si la moyenne est la même pour toutes les modalités, autrement dit que le facteur temps n'a aucun effet sur le paramètre microbiologique considéré (hypothèse nulle H_0). L'idée de base est (Dehon et al., 2008) :

1. La décomposition de la dispersion (mesurée par la variance) en deux composantes : La première composante représente la dispersion des valeurs observées à l'intérieur des échantillons prélevés (variance « intra ») ; la deuxième composante représente la dispersion des moyennes des échantillons autour de la moyenne globale (variance « inter »).
2. L'évaluation (plan statistique) de l'importance de la deuxième composante par comparaison avec la première composante.

La table de l'ANOVA renvoie alors une valeur calculée $F_{observée}$ ou une « p-value ». La comparaison de $F_{observée}$ à la valeur seuil F_{seuil} au risque d'erreur α choisi (0,050 dans le cas présent) ou bien de la p-value directement au risque d'erreur α, permettra de conclure à une différence significative ou non de l'ensemble des données du paramètre microbiologique étudié. Ainsi une p-value inférieure à 0,050 (ou encore une valeur $F_{observée}$ supérieure à F_{seuil}) conduira à rejeter l'hypothèse H_0 au risque d'erreur α. Cette p-value est donc indicatrice d'une significativité statistique du facteur temps sur le paramètre microbiologique étudié.

Les résultats de ces ANOVA – repris dans le Tableau 12 – indiquent les p-values obtenues après vérification de la normalité et de l'homoscédasticité des données. De nombreux résultats montrent des p-values supérieures à 0,050 : le temps n'a alors pas d'effet significatif sur le paramètre étudié. Ainsi, les références n° 2, 4, 5, 7 ne montrent aucun impact significatif du temps pour chacun des paramètres étudiés. Les évolutions relatives peuvent alors être considérées comme constantes. Cependant, pour d'autres essais (références 1, 3, 6, 8), certains paramètres montrent un effet significatif du facteur temps, comme le signale le symbole « • » ou « ★★★ ». Le symbole « ★★★ » conduit à rejeter l'hypothèse « le facteur temps n'a pas d'effet sur le paramètre étudié » avec un risque d'erreur inférieur à 0,001, contre 0,1 pour le symbole « • ». Celui-ci indique donc une différence significative bien plus faible que le symbole « ★★★ ». L'observation des évolutions temporelles montre effectivement quelques disparités pouvant être

considérées comme peu importantes dans le cas du symbole « • ». Seules les données des bactéries totales dans l'eau et les biofilms de la référence 8 montrent des différences importantes et ne sont pas expliquées. Celles-ci ne seront donc pas intégrées à la détermination des évolutions relatives moyennes des références. Hormis ce cas, les valeurs absolues de chaque paramètre étudié ne sont donc pas ou peu impactées par le temps confirmant l'état d'équilibre du biofilm après la période des 12 jours d'ensemencement des réacteurs. Ces résultats permettent de considérer l'évolution relative des différents paramètres étudiés et de s'affranchir de la dispersion des états initiaux de la flore bactérienne dans les bancs de « référence ».

Tableau 12 : p-value et significativité du facteur temps sur les paramètres microbiologiques étudiés sur le banc « référence »

Référence n°	Biofilms			Eau		
	ATP	Bactéries cultivables	Bactéries totales	ATP	Bactéries cultivables	Bactéries totales
1	0,412 « ns »(1)	0,017 « • »(2)	0,007 « • »	/(4)	/	/
2	0,225 « ns »	0,368 « ns »	0,106 « ns »	/	/	/
3	0,657 « ns »	0,020 « • »	0,201 « ns »	/	/	/
4	0,286 « ns »	0,511 « ns »	0,529 « ns »	/	/	/
5	0,140 « ns »	0,217 « ns »	0,452 « ns »	0,206 « ns »	0,067 « ns »	0,067 « ns »
6	0,194 « ns »	0,036 « • »	0,020 « • »	0,970 « ns »	0,199 « ns »	0,015 « • »
7	0,081 « ns »	0,119 « ns »	0,829 « ns »	0,187 « ns »	0,543 « ns »	0,069 « ns »
8	0,116 « ns »	0,068 « ns »	< 0,0001 « ★★★ »(3)	0,645 « ns »	0,055 « ns »	< 0,0001 « ★★★ »

(1) ns : non significatif

(2) • : faible significativité du facteur (risque d'erreur < 0,1)

(3) ★★★ forte significativité du facteur (risque d'erreur < 0,001)

(4) / pas d'analyses microbiologiques

I.2. Comparaison des deux bancs d'essais

Les deux bancs d'essai étant ensemencés en parallèle, il est nécessaire de vérifier si le comportement de la flore bactérienne y est similaire après 12 jours d'incubation. Une nouvelle analyse de variance est donc réalisée dans le but de vérifier l'existence ou non de différences entre un banc de « référence » et les valeurs initiales du banc de « traitement » qui lui est associé. Les références ne montrant pas de différences significatives importantes sur la durée des essais, les valeurs initiales obtenues sur le banc de « traitement » y sont ajoutées. Dans le cas de la référence n°8, il n'est pas réalisé d'ANOVA sur le paramètre des bactéries totales (eau et biofilms) puisque celui-ci présente des disparités temporelles importantes au cours de l'essai. Dans le cas d'une différence significative entre les valeurs d'un même essai, un test post-hoc est réalisé. Il s'agit de comparer 2 à 2 l'ensemble des moyennes considérées (chaque point du banc de « référence » et le point initial du banc de « traitement ») afin d'en connaître la provenance (test de Tukey utilisé dans le cas de petits échantillons suivants une loi normale). Sur l'ensemble des analyses effectuées, les résultats – reportés dans le Tableau 13 – montrent quelques différences nettement significatives ($p < 0,050$) pour certains paramètres entre les bancs de « référence » et de « traitement ». Ainsi, avant la mise en place d'une désinfection sur le banc de « traitement », celui-ci présente parfois des conditions initiales éloignées de la référence qui lui est associée. L'étude plus particulière des valeurs absolues obtenues sur les paramètres à l'origine de ces différences met en avant des teneurs nettement plus fortes sur le banc de « traitement » que celui de « référence » (sauf dans le cas des bactéries cultivables dans l'eau de l'essai 8). La charge microbienne y est plus importante jouant donc un rôle défavorable vis-à-vis du traitement appliqué.

Ces écarts entre les deux bancs d'essai indiquent que malgré des conditions opératoires identiques (qualité d'eau, température), le développement de la flore microbienne est influencé par le banc d'essai avec une différence notable pour 5 des essais effectués (n°2, 3, 6, 7, 8) sur le dénombrement de bactéries totales dans les biofilms et les bactéries cultivables dans l'eau. Ces différences ne sont pas liées à la chronologie de mise en place des essais, mais à un ensemble de facteurs extérieurs qui ne permettent pas d'assurer la reproductibilité de l'ensemencement des réacteurs tant sur les valeurs absolues que sur l'homogénéité des paramètres entre les deux bancs. Parmi ces facteurs, il est possible de citer l'hydraulique du pilote avec une différence pour le banc de « traitement » qui contient une boucle de circulation d'eau supplémentaire, un effet mémoire du montage réactionnel malgré la phase de nettoyage réalisée entre chaque essai, une variabilité de l'accroche et du développement du biofilm sur les lames de verre ou sur les parois du réacteur.

Tableau 13 : p-value et différences significatives entre le banc de « référence » et les valeurs initiales du banc de « traitement »

N°	Biofilms			Eau			Traitement appliqué
	ATP	Bactéries cultivables	Bactéries totales	ATP	Bactéries cultivables	Bactéries totales	
1	0,254 « ns »(1)	0,013 « • »(2)	0,215 « ns »	/(5)	/	/	H_2O_2 50 mg.L^{-1}
2	0,228 « ns »	0,370 « ns »	< 0,0003 « ★★ »(3)	/	/	/	UV
3	0,148 « ns »	< 0,0001 « ★★★ »(4)	< 0,0001 « ★★★ »	/	/	/	H_2O_2/UV 50 mg.L^{-1}
4	0,439 « ns »	0,446 « ns »	0,528 « ns »	/	/	/	H_2O_2/UV 30 mg.L^{-1}
5	0,115 « ns »	0,074 « ns »	0,309 « ns »	0,243 « ns »	0,077 « ns »	0,073 « ns »	H_2O_2 30 mg.L^{-1}
6	0,019 « ns »	0,036 « ns »	< 0,0001 « ★★★ »	0,902 « ns »	0,035 « • »	0,002 « ★ »	H_2O_2/UV 10 mg.L^{-1}
7	0,054 « ns »	0,108 « ns »	0,616 « ns »	0,007 « ★ »	< 0,0001 « ★★★ »	0,051 « ns »	H_2O_2/UV 30 mg.L^{-1}
8	0,244 « ns »	0,042 « ns »	N.R.(6)	0,173 « ns »	< 0,0001 « ★★★ »	N.R.	UV

(1) ns : non significatif

(2) • : faible significativité du facteur (risque d'erreur < 0,1)

(3) ★★ : significativité moyenne du facteur (risque d'erreur < 0,01)

(4) ★★★ forte significativité du facteur (risque d'erreur < 0,001)

(5) / pas d'analyses microbiologiques

(6) N.R. non réalisé

Cependant, cette étude statistique a mis en avant une évolution relative assez stable de l'ensemble des références réalisées sur tous les paramètres microbiologiques étudiés (ATP, bactéries cultivables et bactéries totales dans les biofilms et dans l'eau), et sur la durée totale des essais menés. Ces résultats sont obtenus malgré des valeurs absolues initialement différentes liées à un ensemencement non contrôlé au sein des réacteurs. Ainsi, les évolutions qu'il sera amené à observer sur le banc de « traitement » ne sont dues qu'à l'application d'un traitement de désinfection. La présence de teneurs initiales plus importantes sur le banc de « traitement » par rapport au banc de « référence » associé ne pourra que porter préjudice au traitement. Dans de telles conditions, une efficacité observée lors de l'application du traitement n'en sera que renforcer.

II. Efficacité de désinfection des traitements UV, H_2O_2 et H_2O_2/UV

Le peroxyde d'hydrogène et les UV ayant des propriétés désinfectantes, l'efficacité du traitement radicalaire et la compréhension des mécanismes mis en jeu ont été évaluées par le biais du suivi cinétique de décroissance des microorganismes ou des nutriments en présence d'UV ou de peroxyde d'hydrogène seul, ainsi que par le couplage H_2O_2/UV.

Au cours de ce travail, plusieurs doses d'oxydant ont été étudiées et certains essais ont pu être répétés (Tableau 14). Les répétitions permettent de vérifier si les premières tendances observées sont confirmées malgré les différences notables du consortium bactérien entre les essais.

Tableau 14 : Essais réalisés en laboratoire

	UV	**H_2O_2**		**H_2O_2/UV**		
[H_2O_2] ($mg.L^{-1}$)		**30**	**50**	**10**	**30**	**50**
Essais	X	X	X	X	X	X
Répétitions	X				X	

Les efficacités de traitement sont principalement déterminées au travers des abattements obtenus sur chaque paramètre étudié (ATP, bactéries cultivables et totales). L'étude de variance a permis de montrer la « stabilité temporelle » de chaque référence, il est ainsi possible de déterminer une évolution relative moyenne les prenant toutes en considération, et ce malgré des valeurs absolues bien distinctes entre chaque essai. Pour revenir aux valeurs absolues, le lecteur se reportera au Tableau A.2 de l'Annexe E.

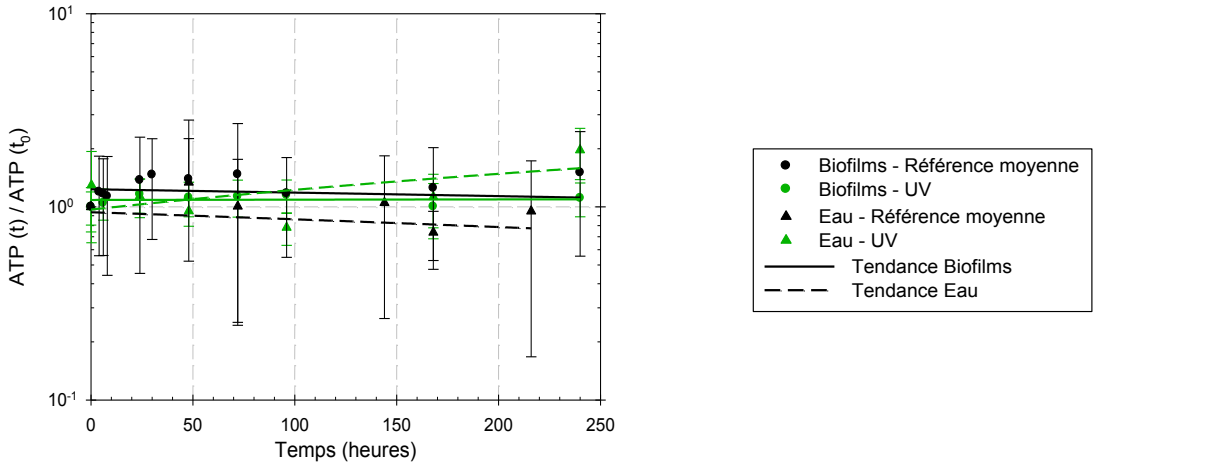
II.1. Traitement UV

Les cinétiques de décroissance des microorganismes lors de l'irradiation UV d'une eau contaminée sont présentées dans la Figure 25.

Les résultats obtenus montrent que l'irradiation UV conduit à une désinfection partielle de l'eau. Bien que les teneurs en ATP restent constantes sur la durée de l'essai, le nombre de bactéries cultivables et totales dans l'eau diminuent de 70%. Ces valeurs sont obtenues après 72 heures de traitement et sont maintenues jusqu'à la fin de l'expérimentation (240 heures de traitement). A l'issue de ce traitement, aucun effet n'est observé sur les teneurs en COD et COT, qui restent proches de leurs valeurs de consigne de 3 $mg.L^{-1}$ et 6 $mg.L^{-1}$ respectivement. L'application du traitement UV au système ne montre aucune efficacité sur les biofilms avec même une légère augmentation du nombre de bactéries cultivables et totales dans les biofilms comparativement à la référence qui est à l'état d'équilibre.

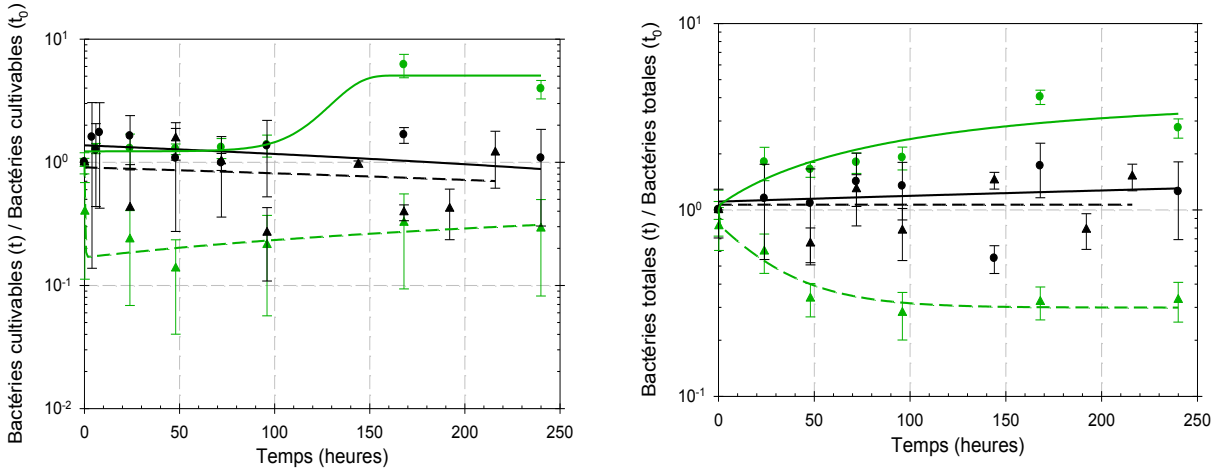
(a) ATP

Légende commune aux paramètres microbiologiques (Figures a, b et c)



(b) Bactéries cultivables

(c) Bactéries totales



(d) COD, COT

(e) Transmittance à 254 nm (sur 10 mm)

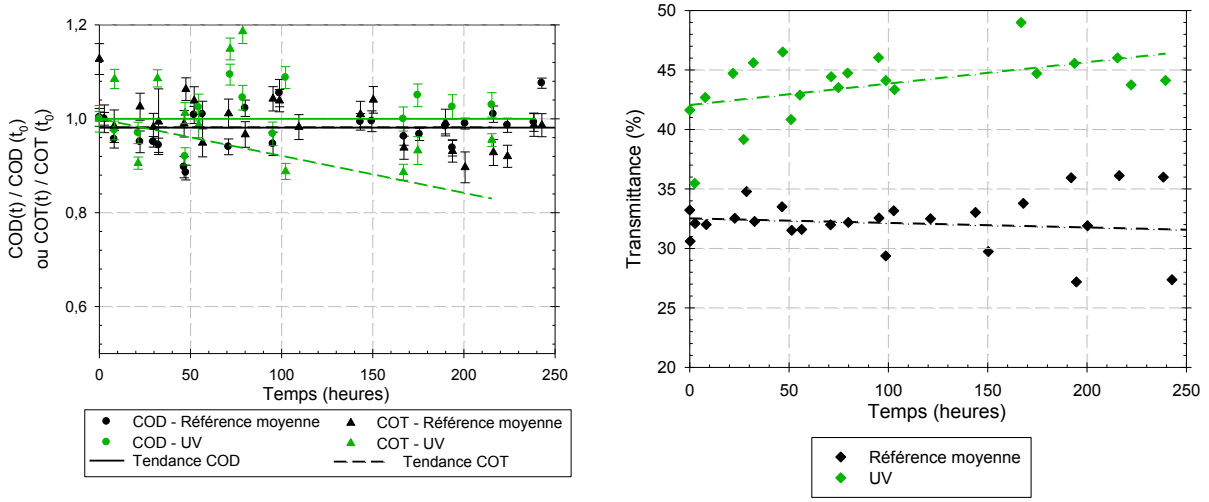


Figure 25 : Evolution temporelle des paramètres microbiologiques (eau et biofilms) soumis à l'irradiation UV : (a) ATP, (b) Bactéries cultivables, (c) Bactéries totales, (d) COD, COT et (e) Transmittance à 254 nm

Le traitement par les ultraviolets est connu pour son efficacité désinfectante sur l'eau circulante. En effet, les bactéries planctoniques sont directement soumises au rayonnement germicide. Dans cette étude, l'efficacité est limitée malgré une dose appliquée importante de 16 $J.cm^{-2}$ pour 240 heures de traitement. Pour comparaison, dans le cas d'une désinfection d'eau potable par les ultraviolets, la dose est de 40 $mJ.cm^{-2}$. Cependant, la transmittance de l'eau n'est pas la même : elle est d'environ 43% sur 10 mm à 254 nm pour l'essai de traitement contre plus de 95% dans le cas d'une eau potable. De plus, cette eau contient une part de matière organique – apportée par les acides humiques – insoluble de 50%. Ces deux paramètres jouent un rôle important dans l'efficacité du traitement. En effet, les acides humiques présents, responsables de la coloration de l'eau et des particules en suspension, agissent comme un écran en absorbant les UV (Karpel Vel Leitner et al., 1992). Ils peuvent ainsi protéger les bactéries du rayonnement émis, limitant la désinfection du milieu. Les caractéristiques initiales de l'eau ne favorisent donc pas le traitement UV et ne correspondent pas à une application optimale du traitement qui conduirait aux efficacités connues.

De plus, les biofilms présents dans le montage réactionnel ne sont pas exposés à l'irradiation UV, jouant aussi un rôle préjudiciable pour le traitement. Ces derniers restent ainsi intacts dans le système, comme l'atteste l'ensemble des paramètres étudiés, et peuvent dès lors réensemencer continuellement l'eau. Pour nos conditions expérimentales, un état d'équilibre semble être établi au delà de 96 heures avec un abattement de 70% de l'activité biologique dans l'eau. Cependant en cas d'arrêt du traitement, l'irradiation UV n'ayant pas d'effet rémanent, il est probable que les teneurs en bactéries dans l'eau reviennent rapidement à leur niveau initial. Cet effet limité de l'irradiation UV sur le traitement des TAR a été observé par Kusnetsov (1994) qui montre que malgré l'application durant 33 jours d'une irradiation ultraviolette sur l'eau circulante, la concentration en bactéries dans le réservoir reste constante. De tels résultats sont expliqués par la présence de biofilms.

A l'issue de cette irradiation, le traitement UV affecte peu la matière organique présente tant en terme d'abattement que de COD, COT ou de transmittance sur la durée de l'expérimentation (240 heures de traitement) (Figure 25d et e). La dose maximale appliquée de 16 $J.cm^{-2}$ n'est très certainement pas suffisante à la mise en place de la minéralisation du COD. En effet, avec une dose UV-C de 22 $J.cm^{-2}$ sur une eau naturelle présentant davantage de carbone organique dissous (17,4 $mg.L^{-1}$) et une transmittance légèrement plus faible (30%), Goslan et al. (2006) n'observent aucune diminution et minéralisation du COD. Par contre, Thomson et al. (2004) ont étudié l'effet du rayonnement UV-C sur une solution d'acides humiques Aldrich, préparée dans l'eau ultrapure, à une concentration de 6 $mg.L^{-1}$ en carbone organique dissous et une transmittance d'environ 30%. Dans ces conditions, proches de celles rencontrées dans cette étude, les auteurs ont observé une minéralisation du COD avec un abattement d'environ 50% après application d'une dose UV de 398 $J.cm^{-2}$. La modification de la structure carbonée de la matière organique par le traitement UV peut conduire dans certains cas à sa minéralisation, observée par de nombreux auteurs dans la littérature (Backlund, 1992 ; Corin et al., 1996 ; Kulovaara et al., 1996).

Dans notre étude, le maintien de la teneur en COD au cours du traitement est également lié aux ajouts réguliers de matière organique réalisés sur la base de la consommation

rencontrée sur le banc de « référence » associé. Ainsi malgré les modifications que peuvent apporter les UV sur le banc de « traitement », la consommation en carbone organique est similaire à celle rencontrée sur le banc de « référence ». Il est cependant difficile de savoir si cette consommation en carbone sur le banc de « traitement » est uniquement liée aux bactéries, comme c'est le cas sur le banc de « référence » ; ou bien s'il s'agit d'un appauvrissement lié à la modification et minéralisation de la matière organique, couplée à une consommation moindre des microorganismes présents. Une telle modification de la matière organique peut également conduire à la formation de molécules plus facilement assimilables, essentielles à la vie microbienne (Corin et al., 1998), pouvant être un inconvénient pour ce type de traitement lors de l'utilisation d'une eau chargée. Cependant, l'état actuel des résultats présentés ne permet pas de comprendre cette évolution des teneurs en carbone organique.

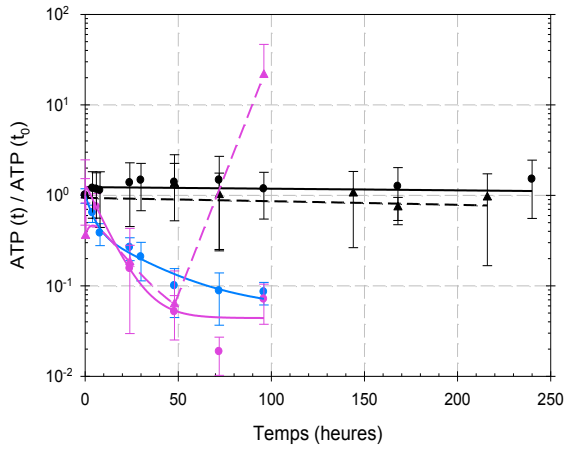
Du point de vue de la désinfection, et bien que l'application d'UV-C soit connue comme efficace, il s'avère que ce traitement n'est pas adapté pour cette eau chargée en matière organique. La faible transmittance de l'eau circulante et la présence de biofilms jouent nettement en sa défaveur.

II.2. Traitement H_2O_2

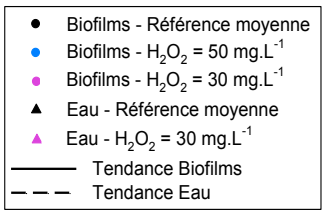
Le traitement de désinfection au peroxyde d'hydrogène est étudié à deux concentrations différentes : 30 et 50 $mg.L^{-1}$. Les cinétiques de décroissance des microorganismes sont présentées dans la Figure 26.

Les résultats obtenus montrent que le peroxyde d'hydrogène présente une efficacité marquée sur les biofilms pour l'ensemble des paramètres avec un abattement d'environ 90% sur les teneurs en ATP, quelle que soit la concentration étudiée. La concentration en peroxyde d'hydrogène de 50 $mg.L^{-1}$ conduit à une diminution de 97% des bactéries cultivables et 66% des bactéries totales. Dans le cas d'un résiduel de 30 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène, une réduction d'environ 60% des bactéries cultivables et totales est obtenue. Paradoxalement, le traitement au peroxyde d'hydrogène ne montre aucune efficacité de désinfection sur l'eau comme l'atteste des concentrations finales similaires ou supérieures à celles présentes initialement pour les trois paramètres microbiologiques étudiés. La teneur en ATP présente même une augmentation conséquente (21 fois plus importante qu'initialement) suite à l'application de ce traitement. Les hausses observées du nombre de bactéries cultivables et totales ne sont pas aussi marquées, avec des teneurs finales respectivement 5 et 1,3 fois plus fortes qu'en début d'essai. Cette différence de teneurs entre l'eau circulante et les biofilms peut s'expliquer par leur décrochage des parois du montage réactionnel sous l'effet du traitement, conduisant à une qualité d'eau dégradée. Un temps de contact supérieur aurait peut-être permis sous l'effet de la dose en peroxyde d'hydrogène d'augmenter l'efficacité du traitement.

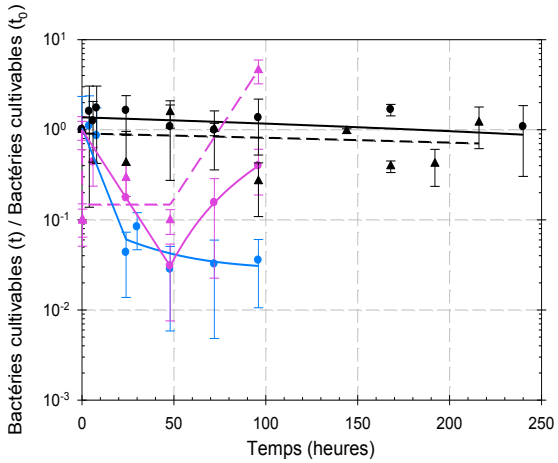
(a) ATP



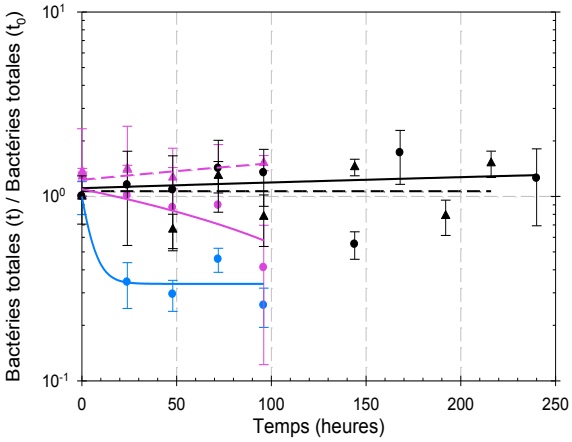
Légende commune aux paramètres microbiologiques (Figures a, b et c)



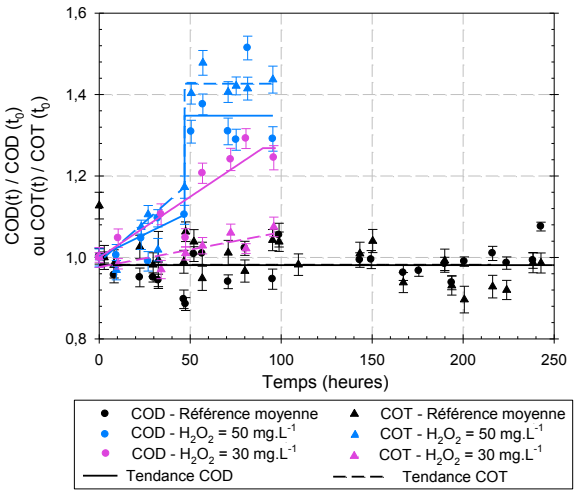
(c) Bactéries cultivables



(c) Bactéries totales



(d) COD, COT



(e) Transmittance à 254 nm (sur 10 mm)

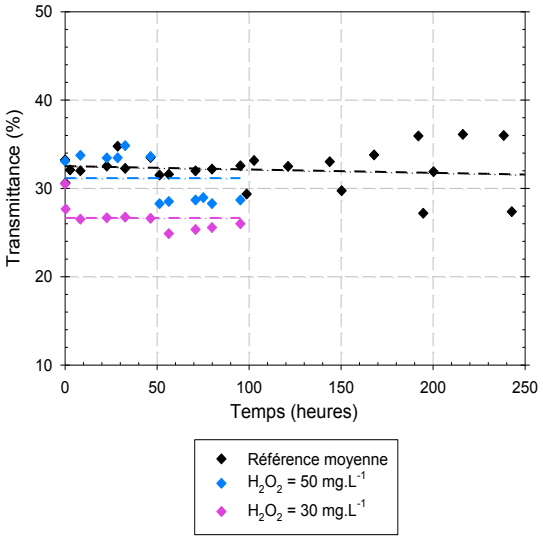


Figure 26 : Evolution temporelle des paramètres microbiologiques (eau et biofilms) soumis à un traitement d'oxydation au peroxyde d'hydrogène : (a) ATP, (b) Bactéries cultivables, (c) Bactéries totales, (d) COD, COT et (e) Transmittance à 254 nm

Cependant, bien que le peroxyde d'hydrogène soit considéré et utilisé comme biocide (Block, 1991), il ne montre qu'une efficacité modérée dans ces conditions d'essais. De nombreuses études montrent la nécessité de concentrations importantes en H_2O_2 pour l'élimination d'espèces planctoniques couramment étudiées : plus de 30 $mg.L^{-1}$ pour *Escherichia coli* (Imlay et Linn, 1987) et plus de 300 $mg.L^{-1}$ dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa* (Schulte, 2003). Les concentrations de 30 et 50 $mg.L^{-1}$, employées dans le cas présent, paraissent alors bien faibles pour obtenir une efficacité conséquente. Or les études rencontrées consistent bien souvent en une injection unique de peroxyde d'hydrogène sans un maintien particulier du résiduel. Le peroxyde d'hydrogène créant un stress oxydatif sur les microorganismes (Imlay, 2008 ; Labas et al., 2008), le maintien d'un résiduel constant pourrait alors être perçu comme une attaque exogène permanente, conduisant à leur élimination. Cependant, la présence de teneurs bactériennes finales plus importantes qu'en début d'essai laisse penser le contraire. Le consortium bactérien de cette étude, provenant de l'environnement (source thermale) et présentant ainsi de nombreuses espèces différentes, nécessitera très certainement l'application d'une concentration en peroxyde d'hydrogène plus importante que dans le cas du traitement d'une espèce unique. Ces observations sont confirmées par Schulte (2003) qui montre qu'après application de 167 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène sur des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, 99,7% des bactéries cultivables fixées sont éliminées, alors que 150 $mg.L^{-1}$ ne permet pas une diminution notable de ce paramètre dans le cas d'un consortium bactérien présent dans un biofilm d'eau de consommation. Ainsi les concentrations employées dans cette étude (30 et 50 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène) semblent trop faibles – par rapport à celles rencontrées dans la littérature – pour observer une efficacité sur la désinfection du pilote. Cependant, la diminution de l'ensemble des paramètres étudiés sur les biofilms (ATP, bactéries cultivables et totales) montre une efficacité de désinfection du peroxyde d'hydrogène à de telles concentrations. La présence d'un résiduel plus important semble conduire à un abattement plus conséquent des bactéries cultivables mais n'est pas visible sur les teneurs en ATP et en bactéries totales où les diminutions sont similaires quelle que soit la concentration étudiée.

Quant aux teneurs en carbone organique dissous et total, elles augmentent de manière continue au cours des essais. Le COD présente des teneurs bien supérieures à la valeur de consigne de 3 $mg.L^{-1}$, maintenue sur le banc de « référence » associé. Il en est de même pour le carbone organique total d'une manière plus ou moins importante, avec environ 2,2 $mg.L^{-1}$ de COT supplémentaire lors de l'application de 50 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène et 0,4 $mg.L^{-1}$ pour une concentration de 30 $mg.L^{-1}$. Il semblerait que la consommation en carbone sur le banc d'essai recevant le traitement H_2O_2 soit bien moins importante que sur le banc de « référence » associé. Celle-ci semble liée à la perte d'activité bactérienne, observée par des abattements nets sur les teneurs en ATP, bactéries cultivables et totales pendant les 48 premières heures de traitement. Cependant sur cette période, aucun ajout de matière organique n'est effectué dans le système (le premier est réalisé au bout de 48 heures). L'augmentation des teneurs en carbone organique peut donc être le reflet de la lyse des bactéries se traduisant par le relargage de leurs contenus intracellulaires dans le milieu. A partir de 50 heures de traitement, la Figure 26c montre que le nombre de bactéries cultivables augmente à la

fois dans l'eau et les biofilms. Il s'en suit alors une consommation en carbone organique plus importante, qui conduit à l'atteinte d'un seuil décelable en fin de traitement. Malgré l'absence d'effet du peroxyde d'hydrogène sur le carbone organique présent, il permet aux microorganismes de trouver dans le milieu une teneur suffisante à leur développement et leur multiplication si le traitement appliqué n'est pas suffisant.

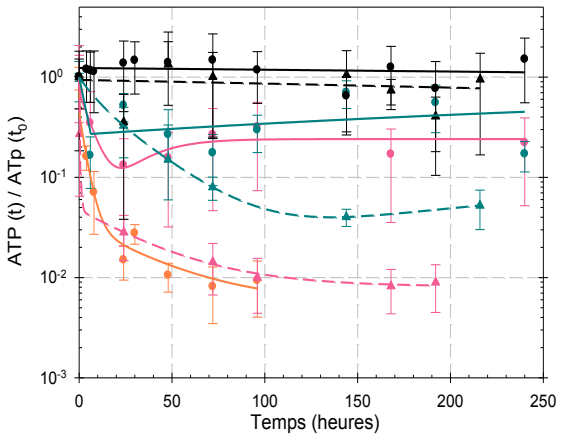
Dans ces conditions d'application, le traitement de désinfection par du peroxyde d'hydrogène avec des concentrations de 30 et 50 $mg.L^{-1}$ conduit à des résultats intéressants avec un bon abattement de la biomasse fixée. L'efficacité de ce traitement reste néanmoins limitée et nécessite des doses (concentration ou temps de contact) importantes pour observer de bonnes performances de ce traitement. A travers ces premiers résultats, une bonne complémentarité des performances des UV et du peroxyde d'hydrogène se dessine : l'oxydant agit sur le biofilm tandis que les UV conduisent à une désinfection de l'eau.

II.3. Traitement H_2O_2/UV

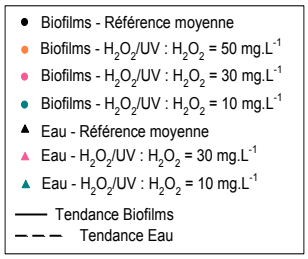
Le traitement H_2O_2/UV a été testé pour différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène (10 ; 30 et 50 $mg.L^{-1}$) avec un fonctionnement continu des ultraviolets (lampe à basse pression de mercure de 33 $W_{électrique}$, 8,5$W_{UV\text{-}C}$).

Le suivi des paramètres microbiologiques montre une diminution nette avec atteinte d'un palier à partir de 72 heures de traitement, conservé jusqu'à la fin des essais (Figure 27). Pour ce temps d'irradiation, les doses UV appliquées sont de 22 $J.cm^{-2}$ pour une concentration de 50 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène ; 14 $J.cm^{-2}$ pour 30 $mg.L^{-1}$ et 10 $J.cm^{-2}$ pour 10 $mg.L^{-1}$. Cette différence dans les doses appliquées – malgré une durée similaire – est liée à l'évolution de la transmittance qui est différente selon les essais. En effet, plus la concentration en peroxyde d'hydrogène est élevée, plus la transmittance est rapidement modifiée, ce qui conduit à des doses UV plus importantes (Figure 27e).

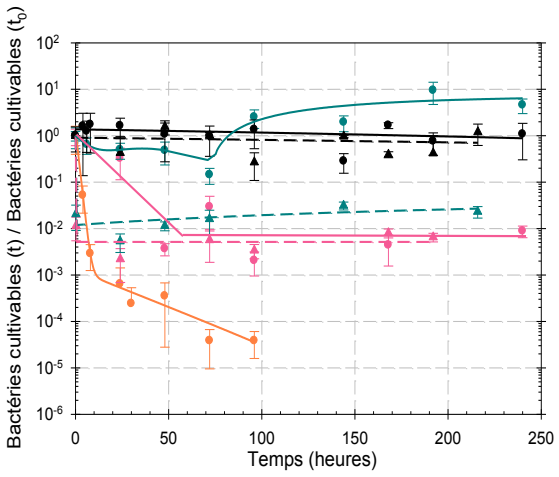
(a) ATP



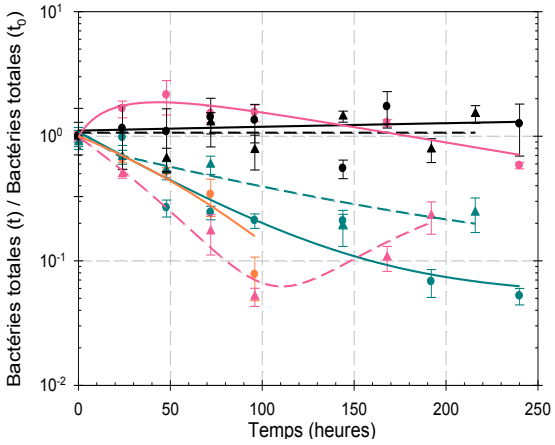
Légende commune aux paramètres microbiologiques (Figures a, b et c)



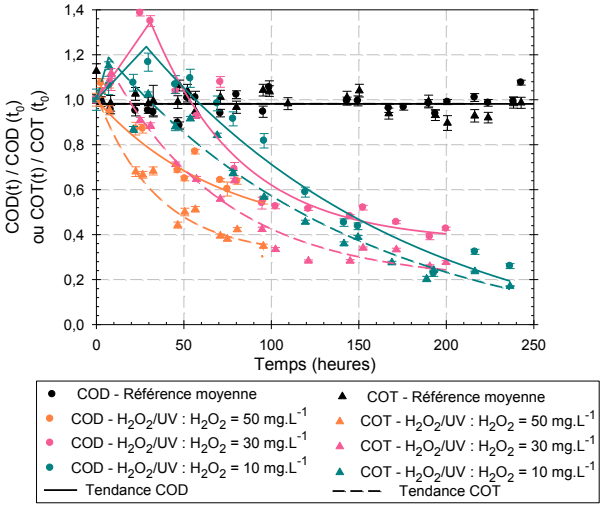
(b) Bactéries cultivables



(c) Bactéries totales



(d) COD, COT



(e) Transmittance à 254 nm (sur 10 mm)

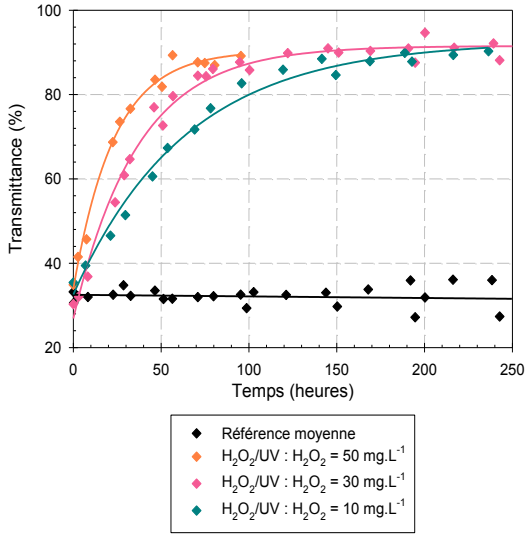


Figure 27 : Evolution temporelle des paramètres microbiologiques (eau et biofilms) soumis au traitement H_2O_2/UV : (a) ATP, (b) Bactéries cultivables, (c) Bactéries totales, (d) COD, COT et (e) Transmittance à 254 nm

L'application de ce couplage conduit à des abattements importants pour l'ensemble des paramètres étudiés, quelle que soit la concentration en peroxyde d'hydrogène appliquée. Un seul paramètre montre une teneur finale supérieure aux conditions initiales : il s'agit des bactéries cultivables présentes dans les biofilms lors de l'utilisation de 10 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène. Sur l'eau circulante, quelle que soit la dose de peroxyde d'hydrogène employée (10 à 30 $mg.L^{-1}$), les abattements sont supérieurs à 95% pour l'ATP, supérieurs à 98% pour les bactéries cultivables et supérieurs à 75% pour les bactéries totales. Pour les biofilms, les abattements obtenus sont conséquents et supérieurs à 75% pour l'ATP, à 99% pour les bactéries cultivables et à 90% pour les bactéries totales, lorsqu'il est appliqué un résiduel en peroxyde d'hydrogène de 30 ou 50 $mg.L^{-1}$. Quant aux teneurs en carbone organique dans le système, elles diminuent de manière importante au cours des essais avec des abattements moyens déterminés pour un temps d'irradiation de 96 heures de :

- pour 50 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène : 49% pour le COD et 65% pour le COT,
- pour 30 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène : 46% pour le COD et 58% pour le COT,
- pour 10 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène : 18% pour le COD et 43% pour le COT.

Ces abattements augmentent avec le temps d'irradiation atteignant 70% pour le COT après un temps d'irradiation de 240 heures pour des doses de 10 et 30 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène.

Alors que les UV n'ont montré aucune efficacité sur les biofilms et que la présence de peroxyde d'hydrogène n'a eu aucun effet de désinfection sur l'eau, la présence simultanée des deux traitements conduit à une désinfection conséquente de l'eau dès les premières heures d'application avec une élimination partielle des biofilms présents. Les abattements liés au couplage sont par ailleurs nettement supérieurs à ceux obtenus pour chaque traitement appliqué individuellement. Le traitement H_2O_2/UV montre donc une efficacité sur l'inactivation des microorganismes dans l'eau et sur les biofilms avec un maintien de la désinfection ainsi qu'un contrôle des biofilms au sein du système, comme l'atteste les paliers obtenus à partir d'environ 72 heures de traitement et conservés jusqu'aux 240 heures totales d'essai (Figure 27). Lakretz et al. (2011a ; 2011b) ont obtenu des résultats similaires. Ils ont montré au cours de leurs travaux qu'après application du couplage H_2O_2/UV (avec des lampes à moyenne pression de mercure), la formation des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* est bien plus limitée que lors de l'application des traitements seuls. Ces auteurs mettent également en avant le maintien nécessaire d'une teneur minimale de peroxyde d'hydrogène de 10 $mg.L^{-1}$ afin de limiter le développement des biofilms. D'après nos résultats, il semblerait que la concentration de 10 $mg.L^{-1}$ ne soit pas suffisante pour obtenir un abattement conséquent en ATP et en bactéries cultivables dans les biofilms. Cependant, le maintien d'un résiduel en peroxyde d'hydrogène plus important (30 ou 50 $mg.L^{-1}$) permet de réduire le biofilm dont l'activité microbienne décroit avec la dose appliquée (Figure 27).

L'utilisation d'un tel couplage permet donc de retrouver les effets de chacun des traitements employés individuellement, ainsi que l'effet synergique lié à leur utilisation simultanée :

- le peroxyde d'hydrogène atteint les biofilms,
- les ultraviolets désinfectent l'eau circulante,

– le couplage conduit à la formation de radicaux hydroxyles pouvant inactiver les microorganismes et oxyder totalement la matière organique présente dans l'eau.

En effet, l'efficacité de désinfection est à mettre en parallèle avec l'impact que peut avoir le traitement sur la qualité chimique de l'eau, notamment à travers la teneur en matière organique (Audenaert et al., 2011). Le suivi des paramètres COD et COT montre que le traitement d'oxydation conduit à une minéralisation importante de la matière organique après plusieurs heures de traitement (Figure 28). Le COT amorce sa diminution après 8 heures de traitement pour les concentrations en peroxyde d'hydrogène de 10 et 30 $mg.L^{-1}$, et après 2 heures pour 50 $mg.L^{-1}$. Le COD quant à lui augmente sur les 30 premières heures de traitement à des concentrations en peroxyde d'hydrogène de 10 et 30 $mg.L^{-1}$ et seulement pendant 3 heures pour 50 $mg.L^{-1}$. Les évolutions en carbone organique dans le système après application du couplage H_2O_2/UV peuvent donc être divisées en trois parties distinctes :

– Phase I : augmentation du COD et du COT,
– Phase II : augmentation du COD et diminution du COT,
– Phase III : diminution du COD et COT.

(a) Carbone organique dissous (COD) (b) Carbone organique total (COT)

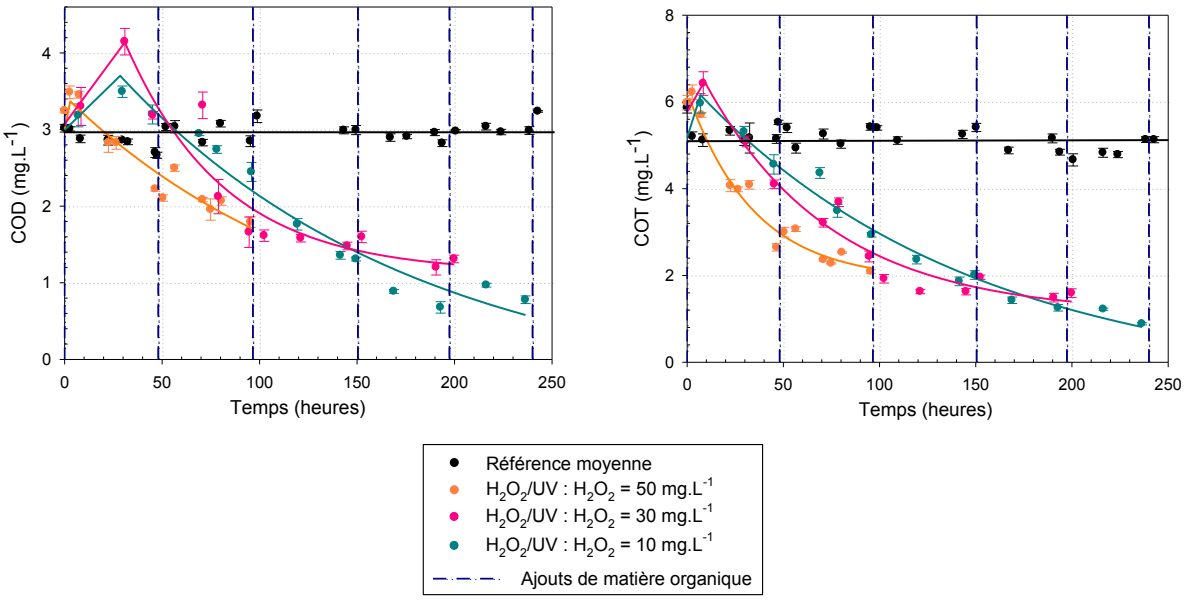


Figure 28 : Evolution temporelles du (a) COD et du (b) COT au cours du traitement par le couplage H_2O_2/UV selon la concentration en peroxyde d'hydrogène appliquée

Lors de la phase I, les teneurs en COT augmentent plus que celles en COD. Cette forte augmentation pourrait être liée au décrochage du biofilm se retrouvant dans l'eau circulante. Celui-ci est peu observé sur les lames de verres car la diminution du nombre de bactéries totales présentes dans les biofilms semble peu importante au cours des 20 premières heures de traitement. Il reste cependant possible qu'une partie du biofilm développé sur les parois du pilote (réservoir, réacteur UV, boucle de circulation) se soit partiellement détachée, augmentant légèrement le COD et COT au cours des 10 premières heures. Ce carbone serait ensuite oxydé par les radicaux hydroxyles avec un début de minéralisation observé pour 20 heures de traitement. La phase II correspond au début de la minéralisation de la matière organique comme l'atteste la

diminution du COT. Le fait que la teneur en COD augmente – alors que le COT – diminue peut être le signe d'un passage du carbone organique particulaire sous forme dissoute, suivi de sa minéralisation au cours de la phase III. Il est également possible que cette augmentation de la teneur en COD soit liée à la lyse des bactéries, libérant alors leurs contenus internes dans le milieu (Lin et Wang, 2011). L'abattement des bactéries cultivables, tant au niveau des biofilms que de l'eau, est par ailleurs très rapide car visible dès les premières heures de traitement, confirmant cette deuxième hypothèse (Figure 27b).

L'application du couplage permet ainsi d'atteindre des teneurs en carbone organique en fin d'essai d'environ 1 $mg.L^{-1}$ pour le dissous et 2 $mg.L^{-1}$ pour le total. De telles valeurs sont obtenues malgré les ajouts de matière organique tous les deux jours qui permettent de maintenir la consigne de 3 $mg.L^{-1}$ en COD sur le banc de « référence » associé. Ces faibles teneurs peuvent être responsables d'un nouvel état d'équilibre entre la composition de l'eau et la qualité microbiologique du système.

Le couplage H_2O_2/UV montre ainsi une efficacité conséquente sur l'ensemble des paramètres microbiologiques étudiés (ATP, bactéries cultivables et totales) aussi bien sur les biofilms que sur l'eau. Celle-ci est bien plus marquée, que dans le cas de l'application individuelle des traitements, avec des abattements nets et maintenus. L'augmentation des bactéries cultivables dans les biofilms, observée lors de l'application de 10 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène, laisse supposer que la concentration n'est pas suffisante pour une désinfection efficace de cette eau. La minéralisation de la matière organique, suite aux radicaux hydroxyles formés, permet également d'appauvrir le milieu en carbone, limitant sa disponibilité pour les microorganismes, ce qui permet le maintien de la désinfection du système.

L'application du couplage H_2O_2/UV est donc nécessaire à l'obtention d'une désinfection efficace. En effet, l'ajout de peroxyde d'hydrogène aux ultraviolets permet de retrouver les avantages de ces deux techniques lorsqu'elles sont appliquées seules, tout en améliorant leurs avantages. Chaque traitement peut ainsi être caractérisé par des points forts et faibles selon le type paramètre suivi (Tableau 15).

Tableau 15 : Efficacité de désinfection des traitements UV, H_2O_2 et H_2O_2/UV

	Microbiologie		**Chimie**	**Observations**
	Biofilms	Eau	Matière Organique	
UV	–	+	–	Efficacité faible sur l'eau
H_2O_2	+	–	–	Nécessité d'appliquer une dose minimale en H_2O_2
H_2O_2/UV	+	+	+	Dose minimale en H_2O_2 plus faible que dans le cas du traitement H_2O_2 seul

+ : efficacité observée ;- : pas d'efficacité

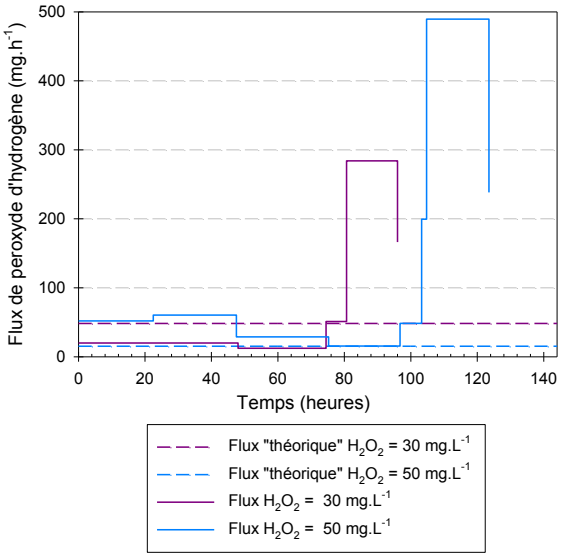
III. Interaction des bactéries avec le peroxyde d'hydrogène

Si le traitement au peroxyde d'hydrogène seul à 30 et 50 mg.L^{-1} permet une élimination partielle du biofilm, sa mise en place se traduit par une consommation importante de l'oxydant et une difficulté à maintenir un résiduel.

La détermination des flux de peroxyde d'hydrogène injectés au cours du temps de réaction – reportés sur la Figure 29 – montrent deux phases dans le traitement :

- une première phase ($0 < t < 72$ heures pour $[H_2O_2] = 30$ mg.L^{-1} et $0 < t < 96$ heures pour $[H_2O_2] = 50$ mg.L^{-1}) pour laquelle les flux injectés correspondent aux flux calculés prenant en compte la photolyse du peroxyde d'hydrogène et de sa consommation par le système (cinétique déterminée en l'absence de microorganismes sur une eau ne contenant que la matrice carbonée et le peroxyde d'hydrogène) ;
- un décrochage de la concentration en peroxyde d'hydrogène après 72 ou 96 heures malgré l'ajout important de peroxyde d'hydrogène dans l'eau à traiter. Il coïncide avec une augmentation des paramètres microbiologiques ($t > 48$h), faisant suite à un abattement visible de l'ATP et des bactéries cultivables dans les biofilms (Figure 26a et b).

(a) Flux



(b) Concentration

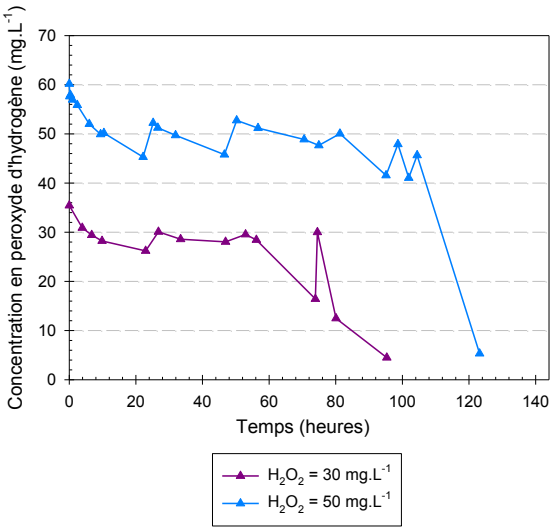
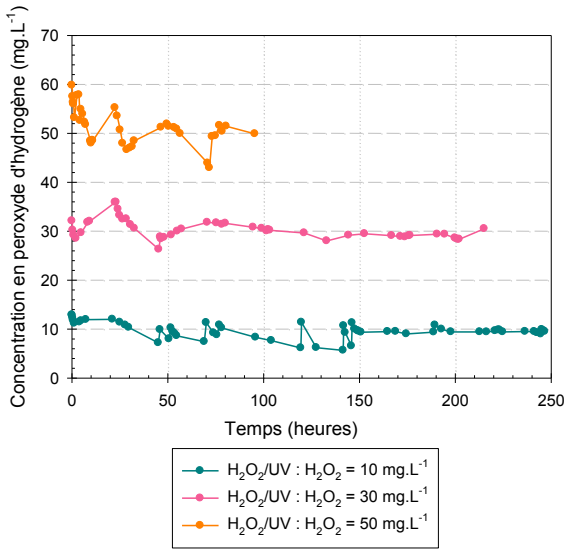


Figure 29 : Flux injectés et concentrations en peroxyde d'hydrogène au cours des traitements par du peroxyde d'hydrogène seul

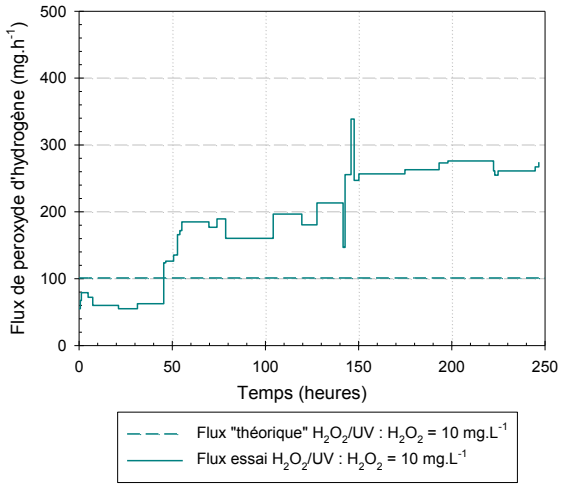
Un tel phénomène n'a pas été observé lors de l'application du traitement H_2O_2/UV pour les concentrations résiduelles en peroxyde d'hydrogène de 30 et 50 mg.L^{-1} n'indiquant pas de surconsommation de l'oxydant (Figure 30b$_2$ et b$_3$). Par contre, un flux – environ 3 fois supérieur au flux théorique – a été nécessaire après 48 heures de traitement pour maintenir la concentration résiduelle en peroxyde d'hydrogène à 10 mg.L^{-1}. Il semblerait que pour cette concentration, des réactions secondaires se soient mises en place comme dans le cas du traitement au peroxyde d'hydrogène seul. Celles-ci ne seraient pas

inhibées lorsque la concentration en peroxyde d'hydrogène augmente (cas du peroxyde d'hydrogène seul) mais bien lorsque la génération de radicaux hydroxydes est suffisante (cas du traitement H_2O_2/UV).

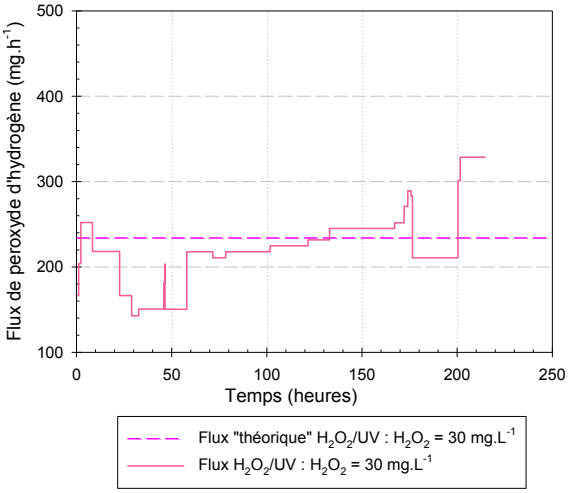
(a) Concentration



(b1) Flux ([H_2O_2] = 10 mg.L^{-1})



(b2) Flux ([H_2O_2] = 30 mg.L^{-1})



(b3) Flux ([H_2O_2] = 50 mg.L^{-1})

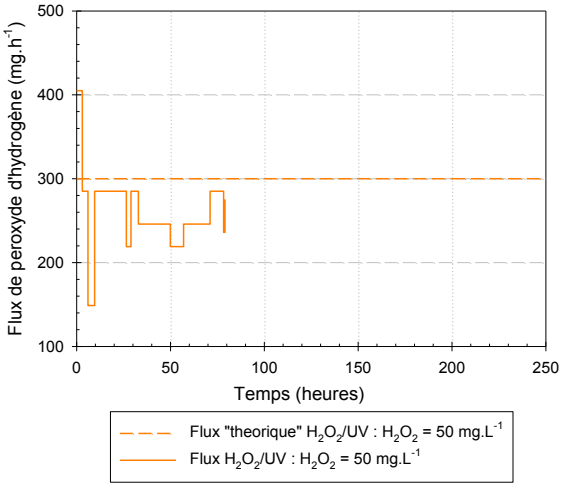
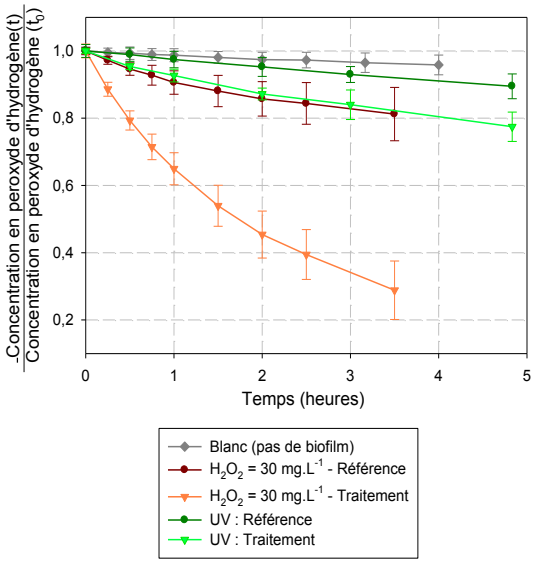


Figure 30 : (a) Concentrations et (b) flux injectés de peroxyde d'hydrogène au cours des traitements H_2O_2/UV

Afin d'identifier les réactions responsables de la consommation du peroxyde d'hydrogène, plusieurs cinétiques ont été réalisés dans les réacteurs biologiques du banc de « traitement » et de « référence » qui lui est associé. En fin de chaque essai de traitement, les réacteurs biologiques ont été isolés du pilote et vidangés de sorte à conserver uniquement les biofilms qui se sont développés sur les parois du réacteur et sur les lames de verre restantes et ayant subi le traitement appliqué. Ces réacteurs sont rapidement remis en eau avec une solution de tryptone à 0,5 mg.L^{-1} de COD et d'acides humiques à 2,5 mg.L^{-1} de COD, à laquelle est ajouté du peroxyde d'hydrogène afin d'obtenir une concentration de 50 mg.L^{-1}. Le suivi du résiduel de peroxyde d'hydrogène au cours du temps est présenté dans la Figure 31, où l'évolution des concentrations correspond à la moyenne obtenue dans chacun des 3 réacteurs biologiques.

(a) Traitement H_2O_2 et traitement UV



(b) Traitement H_2O_2/UV

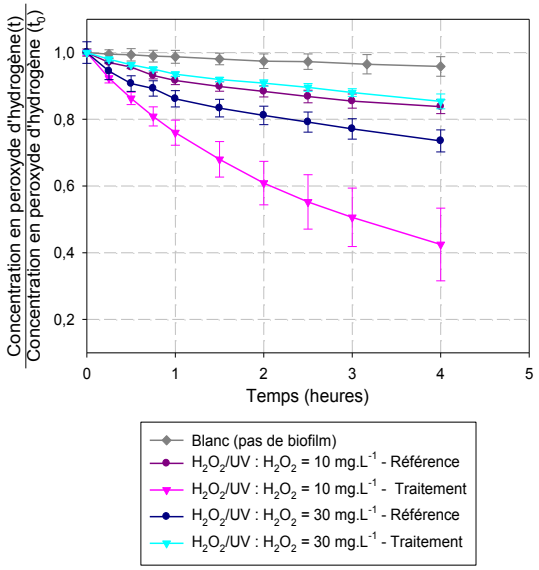


Figure 31 : Dégradation du peroxyde d'hydrogène au sein des réacteurs biologiques après application des traitements testés

Les cinétiques reportées sur la Figure 31a et b montrent que la consommation du peroxyde d'hydrogène est de l'ordre de 20% en 4 heures pour l'essai correspondant au banc de « référence », c'est à dire une eau au contact d'un biofilm n'ayant pas vu de traitement. Cette consommation est identique pour les essais sur l'eau en présence d'un biofilm ayant été en contact avec une eau traitée soit aux UV (Figure 31a), soit par le couplage H_2O_2/UV à une concentration de 30 mg.L^{-1} (Figure 31b). Ainsi, cette consommation en peroxyde d'hydrogène correspond pour l'essentiel aux réactions d'oxydation des parois cellulaires des microorganismes présents dans les réacteurs biologiques, et de façon plus minoritaire, à des réactions d'oxydation de la matière carbonée contenue dans l'eau. Ces dernières sont responsables de la consommation en peroxyde d'hydrogène à la hauteur de 5% maximum au bout de 4 heures (blanc correspondant à une eau chargée en matière organique mais sans biofilm dans les réacteurs).

Par contre pour les deux essais sur l'eau en présence d'un biofilm ayant été en contact avec une eau traitée, soit au peroxyde d'hydrogène seul à une concentration de 30 mg.L^{-1}, soit par le couplage H_2O_2/UV à une concentration en peroxyde d'hydrogène de 10 mg.L^{-1} (Figure 31), la consommation en H_2O_2 est beaucoup plus importante que dans les tests précédents. De tels essais confirment ainsi les résultats obtenus lors de l'étude des flux de peroxyde d'hydrogène injectés. Il semblerait que cette consommation en peroxyde d'hydrogène soit effectivement liée aux biofilms et surtout à leur adaptation à cet oxydant, expliquant l'augmentation des teneurs en ATP et bactéries cultivables observée dans les biofilms (Figure 26a et b). De la même façon, lors de l'essai H_2O_2/UV à 10 mg.L^{-1}, les teneurs en bactéries cultivables présentes dans les biofilms montrent un abattement plus ou moins marqué sur les premières 72 heures de traitement avant d'augmenter pour atteindre ou dépasser le niveau initial (Figure 27b). Des résultats similaires ont été observés sur les microorganismes contenus dans l'eau avec une augmentation de l'ATP et des bactéries cultivables dans l'eau circulante (Figure 27a et

b). Une telle observation n'est visible que dans le cas du traitement par H_2O_2, mais pas pour le couplage H_2O_2/UV. En effet, la présence des ultraviolets – et l'amélioration de la transmittance – semblent permettre le maintien d'une désinfection de l'eau tout au long des essais, et donc de limiter l'adaptation des bactéries planctoniques vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène.

De tels résultats sont en accord avec les résultats publiés par certains auteurs. Cependant contrairement à l'application constante du traitement réalisée dans ces travaux, les études rapportées effectuent des ajouts ponctuels de peroxyde d'hydrogène sur une courte période (traitement choc). Ainsi Schulte (2003) montre, par exemple, la contamination de son réacteur d'étude suite à une première application durant 24 heures de 610 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène. Cet ajout permet l'élimination complète des bactéries cultivables dans l'eau et les biofilms, avec un abattement de seulement 90% des bactéries totales. Il s'avère qu'après arrêt de ce traitement, les bactéries cultivables réinvestissent le système, en présentant des teneurs supérieures à celles rencontrées avant application du biocide, aussi bien dans les biofilms que dans l'eau (Figure 32).

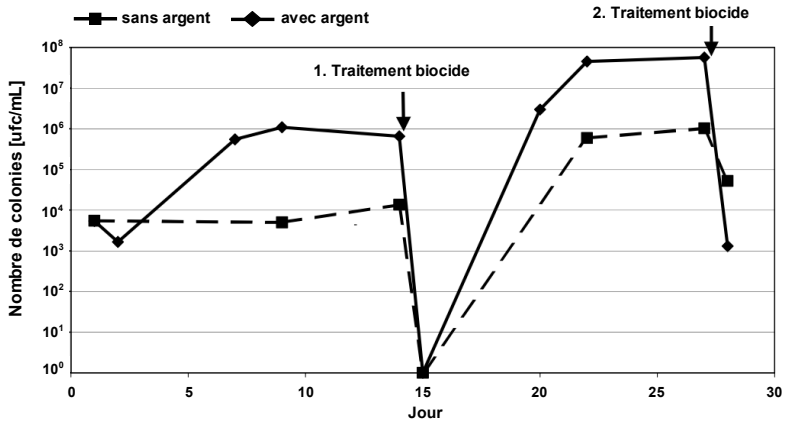


Figure 32 : Recontamination des surfaces du réacteur par Pseudomonas aeruginosa après application de 610 $mg.L^{-1}$ H_2O_2 ou 604 $mg.L^{-1}$ H_2O_2 et 600 $\mu g.L^{-1}$ $AgNO_3$ pendant 24 heures (Schulte, 2003)

La seconde injection de peroxyde d'hydrogène (identique à la première) conduit à un abattement moindre des bactéries planctoniques et fixées, stimulant même les bactéries cultivables présentes dans les biofilms (Figure 32). Il semble donc que les bactéries cultivables soient plus réactives à l'application d'H_2O_2 que les bactéries totales, confortant les observations faites dans cette étude (Figure 26b et c ; Figure 27b et c). Les bactéries deviendraient ainsi moins sensibles au traitement. Christensen et al. (1990) confirment ces constatations en montrant qu'un traitement répétitif au peroxyde d'hydrogène conduit à une perte moins importante du biofilm.

Les hypothèses avancées par Schulte (2003) sont soit un changement ou un déplacement dans la population microbienne vers des membres aux niveaux intrinsèques en catalase plus élevés (sélection de bactéries résistantes au peroxyde d'hydrogène), soit l'induction de catalase par des membres spécifiques de la population (adaptation des bactéries avec une résistance acquise). En effet, le peroxyde d'hydrogène joue un rôle de stress oxydatif au niveau des microorganismes, lesquels s'en protègent grâce au développement d'enzymes (superoxyde dismutase, catalase, peroxydase) qui neutralisent cet oxydant. Une telle adaptation se produit également dans le cas de milieux plus complexes, comme

dans des colonnes de sol, où Fiorenza et Ward (1997) ont montré que l'activité catalasique est alors plus importante en tête de colonne, là, où la concentration en peroxyde d'hydrogène est la plus élevée.

Dans le cas où l'eau est traitée par le couplage H_2O_2/UV à faible concentration en peroxyde d'hydrogène – 10 $mg.L^{-1}$ – il semblerait que le maintien d'un résiduel en peroxyde d'hydrogène, grâce à l'injection continue d'oxydant, permette d'inhiber les enzymes mises en place. En effet, un flux maintenu en peroxyde d'hydrogène et en radicaux hydroxyles formés grâce aux ultraviolets va constituer un stress oxydatif constant et important que les enzymes ne pourront plus combattre, car n'arrivant plus à garder un gradient suffisamment différent entre l'intérieur et l'extérieur des cellules pour les préserver. La présence des UV conduit également à la photo-inactivation de ces enzymes, ne permettant pas leur mise en place au sein des bactéries planctoniques (Drabkova et al., 2007 ; Tytler et al., 1984) ce qui maintient la désinfection de l'eau.

De nombreux organismes présentent et/ou développent de telles enzymes : *Pseudomonas aeruginosa* (Elkins et al., 1999 ; Stewart et al., 2000), *Bacillus* (Paar et al., 2003), *Escherichia coli* (Ma et Eaton, 1992). La population bactérienne dans cette étude n'est pas connue car il s'agit de biofilms environnementaux développés dans une source d'eau thermale. Cependant, il est entièrement envisageable que bon nombre d'espèces contenues dans ces biofilms puissent présenter et développer de telles défenses. La présence initiale de ces enzymes tend à augmenter la tolérance des organismes même en présence de faibles concentrations en peroxyde d'hydrogène. En effet, des cellules exposées régulièrement à des concentrations sublétales de peroxyde d'hydrogène (0,07 $mg.L^{-1}$) développent une résistance face à cet oxydant (Elkins et al., 1999 ; Izawa et al., 1996). L'activité catalasique se développe même de manière plus importante en présence de faibles concentrations en peroxyde d'hydrogène car à de telles doses, il n'inhibe pas la croissance des bactéries (Davidson et Branen, 1993). Une telle remarque correspond bien à l'observation de la mise en place plus rapide de la consommation excessive de peroxyde d'hydrogène lorsque les concentrations appliquées sont plus faibles.

La mise en place potentielle d'une telle adaptation des bactéries au peroxyde d'hydrogène nécessite une surveillance toute particulière. Celle-ci pouvant se produire même en présence des ultraviolets, le suivi et contrôle du résiduel en peroxyde d'hydrogène est obligatoire afin d'éviter toute dérive du système. Cela pourrait alors se traduire par un développement bactérien important, nécessitant des concentrations en peroxyde d'hydrogène ou des doses UV nettement plus importantes, voire l'application d'un autre biocide pour contrecarrer cette prolifération.

IV. Impacts des traitements UV, H_2O_2 et H_2O_2/UV sur la matière organique

La matrice carbonée permettant de reconstituer l'eau à traiter dans cette étude est un mélange de tryptone à 0,5 mg.L^{-1} de COD et d'acides humiques Aldrich à 2,5 mg.L^{-1} de COD. Cette partie a pour objectif de comprendre le mécanisme d'élimination de la matière organique par les processus chimiques et biochimiques mis en place lors de ces traitements. Afin de comprendre l'impact des différents processus sur la modification de la matière organique, des échantillons moyens ont été réalisés sur :

- la solution initiale de matière organique, préparée dans l'eau ultrapure et n'ayant pas été au contact avec les microorganismes du pilote,
- l'eau en fin de phase d'ensemencement (après 12 jours d'incubation) sur le banc de « référence » et le banc de « traitement »,
- l'eau après application des différents traitements UV, H_2O_2 et H_2O_2/UV avec application d'une concentration de 30 mg.L^{-1} en peroxyde d'hydrogène.

La caractérisation de la matière organique à ces différents stades a été réalisée par un test de biodégradabilité mais aussi par des analyses spectrales (UV-Visible, fluorescence 3-D). Ces résultats seront comparés à ceux obtenus lors de l'étude du carbone organique, source de nutriments pour les microorganismes.

IV.1. Traitement des échantillons

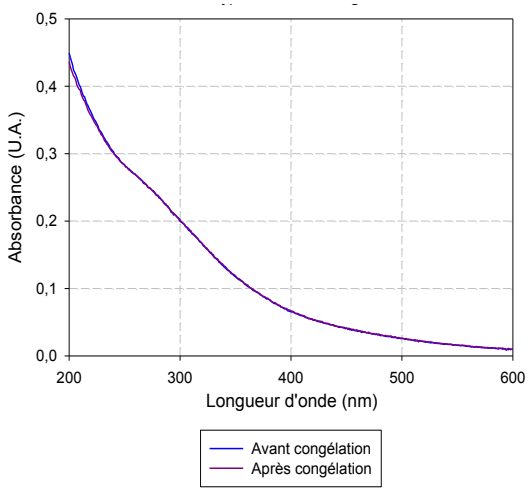
Les analyses de DCO, DBO_5 et des spectres de fluorescence ont été réalisées sur des échantillons congelés. Ces échantillons ont ensuite été concentrés 10 fois à l'évaporateur rotatif afin d'obtenir des teneurs intégrant les gammes d'analyses. Cette concentration est essentielle pour la mesure de la DBO_5 notamment pour réensemencer l'échantillon avec de l'eau de dilution. Un contrôle de l'effet de concentration a été réalisé par des analyses de COD et DCO avant et après dilution dans l'eau ultrapure de ces échantillons concentrés. Quant aux spectres UV et de fluorescence, les échantillons sont préalablement filtrés à 0,2 µm, puis dilués de sorte à obtenir une absorbance de 0,2 à 330 nm.

IV.1.1. Impacts de la congélation

L'impact de la congélation est étudié sur une solution de tryptone à 0,5 mg.L^{-1} de COD et d'acides humiques Aldrich à 2,5 mg.L^{-1} de COD.

Les résultats montrent un faible impact de la congélation aussi bien sur les teneurs en carbone organique (3,0 mg.L^{-1} de COD avant et après congélation) que de la DCO (13 mg.L^{-1} d'O_2 avant et 11 mg.L^{-1} d'O_2 après congélation), ou même sur les spectres UV (Figure 33a). La seule différence notable se trouve sur les spectres de fluorescence avec des intensités plus importantes après congélation (10%) mais sans modification des maxima des longueurs d'onde d'excitation et d'émission de la matière organique (Figure 33b).

(a) Spectre UV



(b) Spectres de fluorescence

Avant congélation *Après congélation*

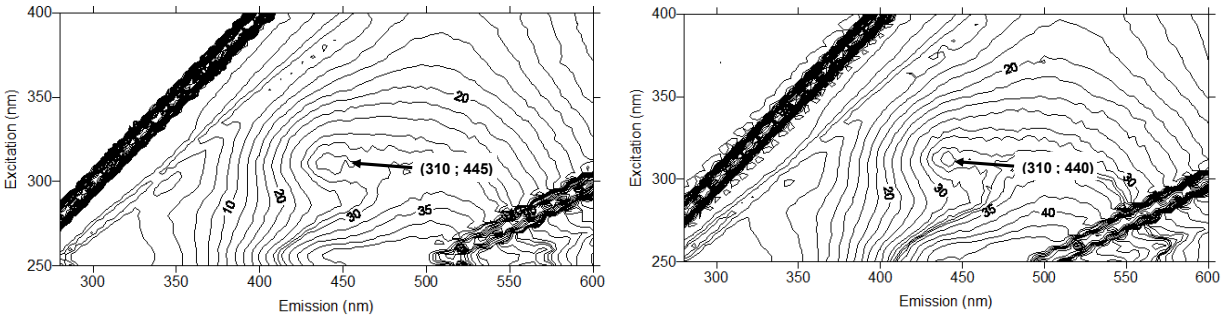


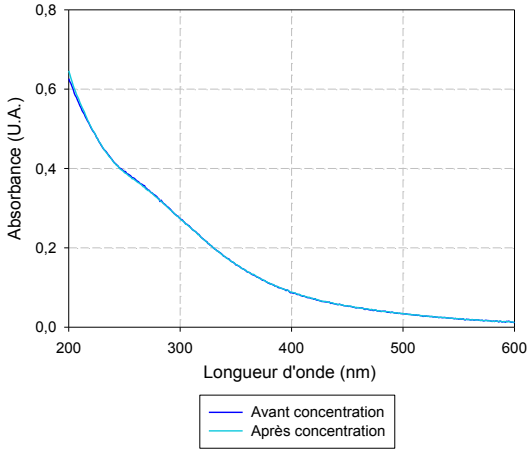
Figure 33 : Impacts de la congélation sur un mélange tryptone / substances humiques (0,5 / 2,5 mg.L^{-1} de COD)

IV.1.2. Impacts de la concentration

L'effet de la concentration a été étudié sur la même solution « témoin » – solution de tryptone à 0,5 mg.L^{-1} de COD et d'acides humiques Aldrich à 2,5 mg.L^{-1} de COD – mais aussi sur les échantillons moyens issus des traitements.

Dans le cas de la solution témoin, la concentration de l'échantillon n'a aucun impact sur l'ensemble des paramètres. Les mesures effectuées avant et après concentration (avec dilution de l'échantillon concentré pour être dans la même gamme de concentration), montrent des résultats identiques pour les teneurs en COD (3,1 mg.L^{-1} de COD avant et 3,0 mg.L^{-1} de COD après concentration), en DCO (11 mg.L^{-1} d'O_2 avant et 13 mg.L^{-1} d'O_2 après concentration) ainsi que sur les spectres UV et de fluorescence où il n'y a pas de modifications spectrales (Figure 34).

(a) Spectre UV (dilué et normalisé à une absorbance de 0,2 à 330 nm)



(b) Spectres de fluorescence

Echantillon témoin *Après concentration et dilution*

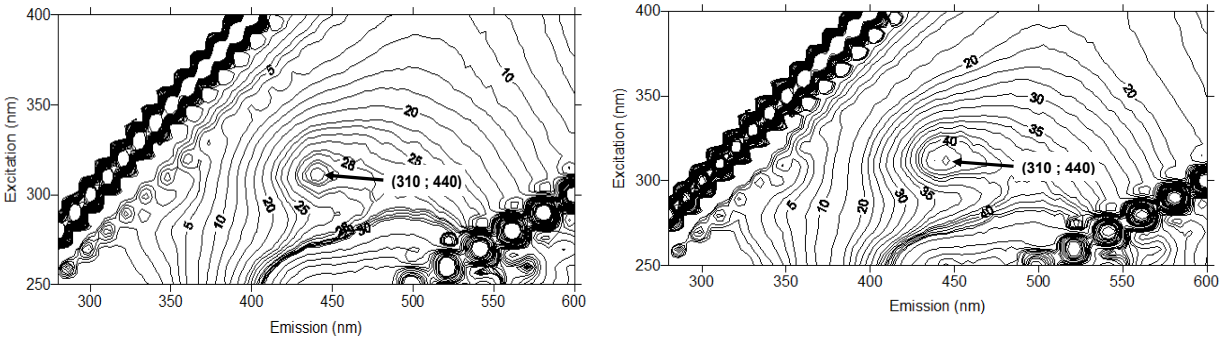


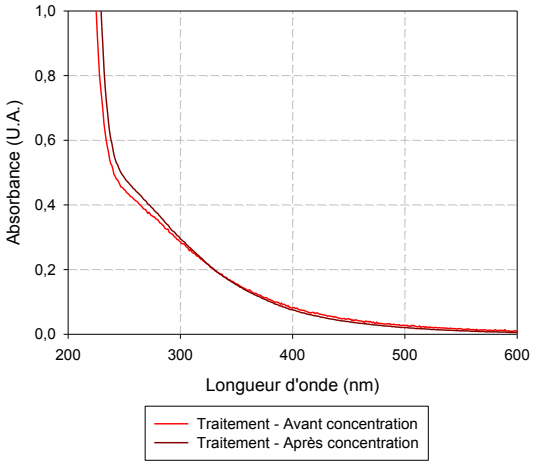
Figure 34 : Impacts de la concentration sur un mélange tryptone / substances humiques (0,5 / 2,5 mg.L^{-1} de COD)

Dans le cas des échantillons obtenus lors des essais sur pilote, des différences plus marquées existent. Pour plus de commodités, seules les valeurs et les spectres de l'échantillon moyen du banc de « traitement » en fin de phase d'ensemencement sont présentés (Figure 35). Les observations sont cependant les mêmes pour l'ensemble des échantillons provenant des essais réalisés sur le pilote.

Une perte du carbone organique dissous d'environ 30% est observable après concentration (3,0 mg.L^{-1} de COD avant et 2,1 mg.L^{-1} de COD après concentration). En effet, la concentration entraîne la formation de produits insolubles avec une précipitation marquée (dépôts blanchâtres), non visible sur la solution témoin car celle-ci est réalisée dans l'eau ultrapure, alors que les échantillons provenant du pilote ont été préparés dans l'eau du réseau contenant des sels minéraux. Cette précipitation est probablement liée à la formation de carbonate de calcium insoluble qui peut ainsi séquestrer une partie de la matière organique dissoute entraînant une perte de COD.

Les teneurs en DCO sont quant à elles peu influencées par le traitement de l'échantillon. Les valeurs obtenues après concentration restent dans un intervalle de 10% autour de la valeur initiale, ce qui correspond à l'incertitude de la mesure. Les modifications entraînées par la concentration n'est donc que peu visible sur ce paramètre.

(a) Spectre UV (dilué et normalisé à une absorbance de 0,2 à 330 nm



(b) Spectres de fluorescence

Avant concentration *Après concentration et dilution*

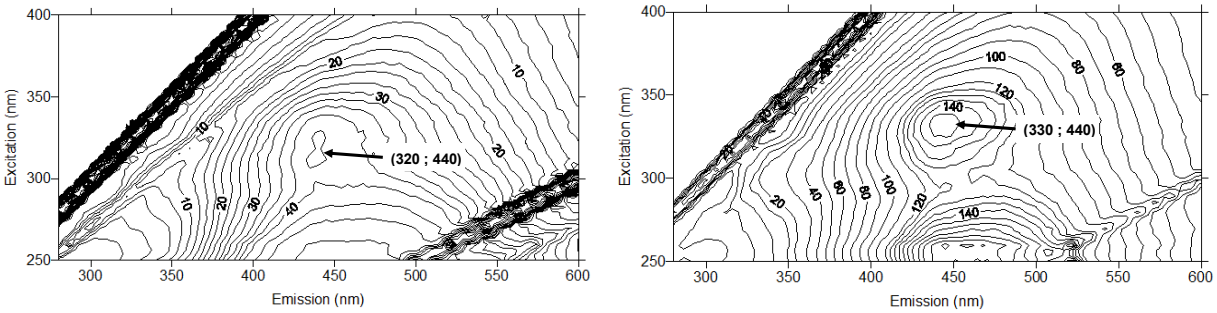


Figure 35 : Impacts de la concentration sur l'échantillon moyen du banc « traitement » en fin de phase de stabilisation

La normalisation des spectres UV permet de montrer une légère modification du spectre après concentration pour les faibles longueurs d'onde, où les absorbances sont quelque peu supérieures à celles obtenues initialement (avant la concentration) (Figure 35a). Les spectres de fluorescence montrent les mêmes caractéristiques spectrales avant et après concentration avec des maxima de longueurs d'onde excitation / émission parfois décalés de 5 à 10 nm (Figure 35b).

Ainsi les étapes de congélation et de concentration ont très peu d'impacts sur les analyses de DCO, les spectres UV et de fluorescence. Malgré le traitement effectué sur l'échantillon, l'étude de la matière organique est donc possible via le test de biodégradabilité (DCO, DBO_5), l'observation des évolutions des spectres UV-Visible et des zones caractéristiques mises en évidence par les spectres de fluorescence, qui ne sont que peu modifiées.

IV.2. Test de biodégradabilité

Afin de caractériser la matière organique contenue dans l'eau, la biodégradabilité a été déterminée grâce au rapport DCO/DBO_5. Ce rapport permet de connaître l'aptitude du milieu face à la biodégradation selon les critères suivants (Rodier et al., 2009) :

- $DCO/DBO_5 < 3$, le milieu est facilement biodégradable ;

- $3 < DCO/DBO_5 < 5$, le milieu est moyennement biodégradable ;
- $DCO/DBO_5 > 5$, le milieu est difficilement biodégradable, voire non biodégradable.

Les mesures ont été réalisées sur les solutions témoins (mélange tryptone / acides humiques utilisé pour l'ajout de matière organique au sein du système) ainsi que sur les solutions ayant été au contact soit des microorganismes (après 12 jours d'incubation), soit des traitements (UV, H_2O_2 seuls et H_2O_2/UV). Les résultats – reportés dans le Tableau 16 – montrent que le mélange tryptone / acides humiques présente un caractère non biodégradable avec un rapport DCO/DBO_5 supérieur à 5. En fin de phase d'ensemencement, les deux bancs d'essai présentent des teneurs en DCO et DBO_5 similaires, prouvant ainsi une évolution semblable de la matière organique sur ces deux montages réactionnels fonctionnant en parallèle. Comparativement au mélange initial tryptone / acides humiques, les teneurs en DCO et DBO_5 – après 12 jours d'incubation – indiquent que si la DCO est maintenue, la part biodégradable de la source carbonée a disparu. Ceci est très certainement lié à la consommation en premier lieu de la tryptone par les microorganismes, conduisant à une accumulation des acides humiques dans le système tout au long de la phase d'ensemencement (Tableau 16).

Les traitements H_2O_2 et UV seuls entraînent peu d'évolution de la matière organique en termes de biodégradabilité. L'ensemble des paramètres (COD, DCO et DBO_5) sont maintenus tout au long de l'essai. A travers ces paramètres globaux, il est difficile de savoir si des composés biodégradables se sont formés à l'issue de ces deux traitements, ou bien si les ajouts de matière organique réguliers masquent cette formation. Cependant, l'activité microbienne étant maintenue dans ces deux traitements, il est fort probable que les bactéries hétérotrophes puisent leurs ressources énergétiques dans la source carbonée de la matière organique pré-oxydée par les UV ou par le peroxyde d'hydrogène. Puisque que l'eau contient peu de source carbonée biodégradable, ces composés pré-oxydés sont consommés par les bactéries tout au long de l'avancement de la réaction.

Le traitement H_2O_2/UV, quant à lui, conduit à une minéralisation importante du carbone organique avec la formation de composés intermédiaires plus hydrophiles et biodégradables (Sarathy et Mohseni, 2007). Cette minéralisation se traduit par un abattement important de la DCO (87%) et du COD (49%) au bout de 240 heures de traitement. La formation de produits oxydés permet ainsi d'abaisser le rapport DCO/DBO_5 à 4. La matrice carbonée contenue dans l'eau initialement peu biodégradable (en fin de phase d'ensemencement) devient alors moyennement biodégradable après application du traitement. Ces résultats sont conformes à ceux publiés par Yonar et al. (2006) qui montrent que l'application d'un tel traitement (lampe UV basse pression et 50 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène) sur des eaux usées domestiques conduit à une diminution de 95% de la DCO (valeur initiale de 336 $mg.L^{-1}$), pouvant alors amener à un rapport DCO/DBO_5 plus faible. De plus, malgré la présence de cette matrice carbonée davantage biodégradable dans l'eau traitée, aucune reviviscence des bactéries dans le biofilm n'est observée. En effet, l'application du traitement entraîne un abattement, rapide (20 heures pour les biofilms, 6 heures pour l'eau) et maintenu sur la totalité de l'essai (240 heures de traitement), sur les teneurs en ATP (76% pour les biofilms et 99% sur l'eau) et bactéries cultivables (plus de 99%) (Figure 27). L'effet s'avère moins marqué sur les bactéries totales avec un abattement de 42% dans les biofilms et 77% sur l'eau.

Par ailleurs, la teneur en bactéries totales montre une tendance à la hausse en fin d'essai (Figure 27) qui n'est pas visible sur les autres paramètres.

Tableau 16 : Demande chimique et biochimique en oxygène et rapport DCO/DBO_5 selon les différentes phases de traitement

		COD $mg.L^{-1}$	**DCO** $mg_{O_2}.L^{-1}$	**DBO_5** $mg_{O_2}.L^{-1}$	**DCO/DBO_5**	**Observation**
Solutions dans l'eau ultrapure	Tryptone (0,5 $mg.L^{-1}$ de COD)	0,5	2	1	2	milieu facilement biodégradable
	Acides humiques (2,5 $mg.L^{-1}$ de COD)	2,5	9	0,2	47	milieu non biodégradable
	Tryptone / acides humiques (0,5 / 2,5 $mg.L^{-1}$ de COD)	2,9	12	1,2	11	milieu difficilement biodégradable
Pilote	Fin de phase d'ensemencement (banc de « référence »)	1,7	7	0,4	17	milieu non biodégradable
	Fin de phase d'ensemencement (banc de « traitement »)	1,8	9	0,5	19	milieu non biodégradable
	Fin traitement UV	1,3	10	0,3	33	milieu non biodégradable
	Fin traitement H_2O_2 ($30\ mg_{H_2O_2}.L^{-1}$)	2,5	10	0,4	23	milieu non biodégradable
	Fin traitement H_2O_2/UV (H_2O_2 = $30\ mg_{H_2O_2}.L^{-1}$)	0,9	1	0,3	4	milieu moyennement biodégradable

Remarque : Les analyses réalisées sur le pilote sont effectuées sur des échantillons concentrés (environ 10 fois). Ainsi pour une DBO_5 indiquée de 0,5 $mg.L^{-1}$ d'O_2, il a été mesuré 5 $mg.L^{-1}$ d'O_2 (valeur intégrant la gamme de concentration employée).

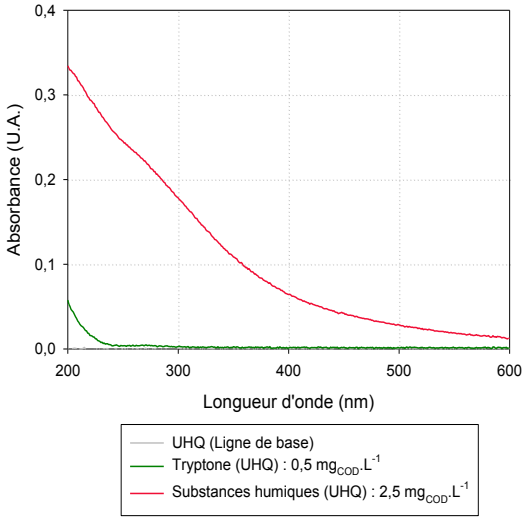
IV.3. Caractérisation spectroscopique de la matière organique

IV.3.1. Analyse des spectres d'absorption et de fluorescence

Le suivi des caractéristiques spectroscopiques au cours des traitements appliqués, permet de connaître l'évolution de certaines caractéristiques de la matière organique (couleur, aromaticité…).

Les spectres UV et de fluorescence des solutions étudiées dans ce travail (tryptone à 0,5 mg.L^{-1} de COD et acides humiques à 2,5 mg.L^{-1} de COD) montrent que l'absorption et l'émission de la radiation lumineuse sont principalement dues aux acides humiques (Figure 36). La tryptone, étant constituée principalement d'acides aminés et de peptides, n'absorbe pas dans le domaine de l'UV et du visible contrairement aux acides humiques qui contiennent de nombreuses structures insaturées aliphatiques et aromatiques, et qui présentent une absorption continue entre 200 et 600 nm.

(a) Spectre UV



(b) Spectre de fluorescence

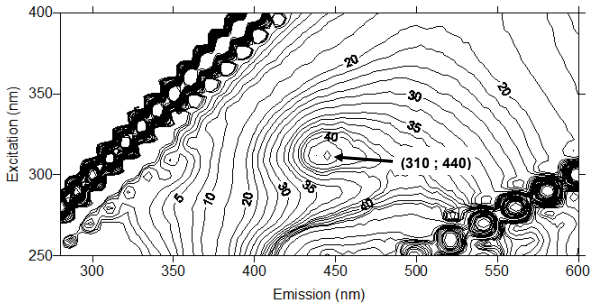


Figure 36 : Spectres UV et de fluorescence d'une solution de tryptone à 0,5 mg.L^{-1} de COD et d'acides humiques à 2,5 mg.L^{-1} de COD

Les spectres de fluorescence permettent de mettre en avant des longueurs d'onde caractéristiques de la matière organique, définies par un couple de longueur d'onde excitation / émission. La figure ci-après (Figure 37) résume l'ensemble de ces zones caractéristiques.

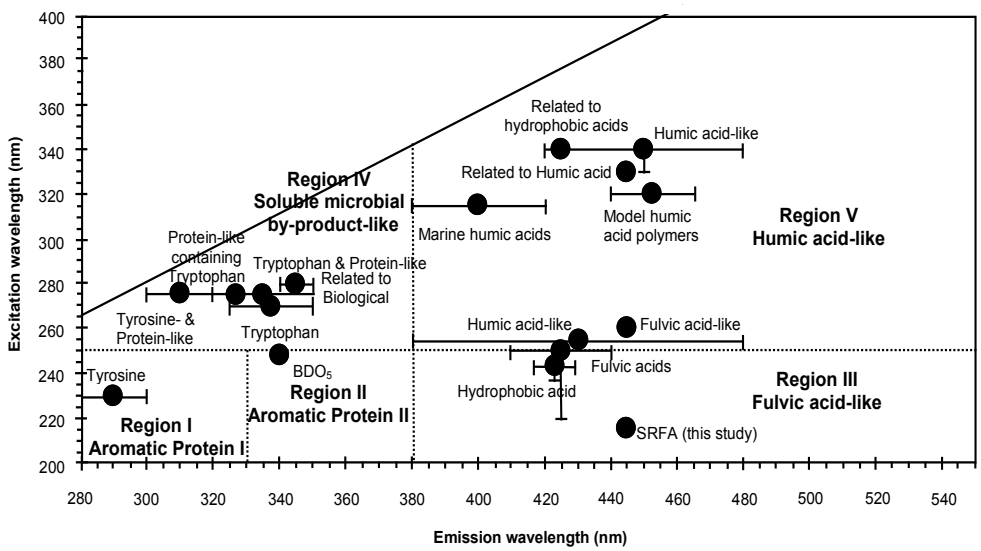


Figure 37 : Localisation des pics de la matrice excitation / émission basée sur la littérature et définissant 5 régions (Chen et al., 2003)

D'après ces données, les acides humiques commerciaux (modèles) ont un couple de longueurs d'onde excitation / émission (330 nm/440 à 465 nm) dans la même zone que ceux contenus dans les eaux naturelles (brutes, marines). Ainsi, bien que les acides humiques commerciaux employés dans cette étude soient issus de tourbe, leur utilisation présente l'avantage de disposer facilement d'une source de matière organique dont les caractéristiques spectrales sont proches de celles rencontrées dans les eaux naturelles.

Les spectres UV seront également exploités à des longueurs d'onde caractéristiques des acides humiques, notamment pour mesurer :

- l'aromaticité de la matière organique grâce à :
  - La mesure de l'absorbance à 280 nm correspondant à la transition électronique $\pi - \pi^*$ des cycles aromatiques. Cette longueur d'onde permet de déterminer l'aromaticité totale de l'échantillon notamment pour des structures chimiques de type arènes phénoliques, acides benzoïques, dérivés aniline et polyène ainsi que les hydrocarbures aromatiques polycycliques possédant plus de 2 cycles aromatiques. (Chin et al., 1994 ; Traina et al., 1990). Ces composés présentent un maximum d'absorption entre 270 et 280 nm.
  - La détermination du $SUVA_{254}$ qualifiée d'absorbance spécifique. Il s'agit du rapport entre l'absorbance mesurée à 254 nm sur échantillon filtré et sa teneur en carbone organique dissous. Il est un bon indicateur du caractère aromatique de la matière organique dissoute. En effet, l'absorbance à 254 nm permet de caractériser la présence de systèmes conjugués (noyaux aromatiques en particulier) très abondants dans la matière organique sans identification d'une classe de chromophore particulière (Corin et al., 1998 ; Korshin et al., 1997 ; Rodier et al., 2009)
- la couleur : La mesure de l'absorbance à 400 nm ou bien 465 nm permet de connaître l'évolution de ce paramètre (Hautala et al., 2000 ; Uyguner et Bekbolet, 2005).

IV.3.2. Modification des paramètres spectroscopiques par l'application des différents traitements

Les spectres UV et de fluorescence ont été tracés sur les solutions utilisées pour les ajouts de matière organique, contenant le mélange tryptone / acides humiques, ainsi que sur les solutions ayant été au contact soit des microorganismes (après 12 jours d'incubation), soit après application des traitements (UV, H_2O_2 seuls et H_2O_2/UV).

Les spectres d'absorption, reportés dans la Figure 38, présentent des allures similaires quels que soient le stade ou l'étape de traitement. Seul le traitement H_2O_2/UV conduit à un spectre totalement modifié avec de faibles absorbances pour des longueurs d'onde comprises entre 250 et 600 nm (Figure 38a). Cependant, la normalisation des spectres au point d'absorbance de 0,2 (validité de la loi de Beer-Lambert) à une longueur d'onde de 330 nm (longueur d'onde d'excitation caractéristique des acides humiques dans cette étude) permet de mettre en évidence une différence nette entre la solution d'ajout de matière organique et les échantillons en fin de phase d'ensemencement ou après traitement H_2O_2 ou UV pour des longueurs d'onde comprises entre 200 et 300 nm (Figure 38b). La présence de microorganismes au contact de l'eau à traiter semble avoir modifié le profil global de son spectre UV. L'absorbance étant additive, ces modifications de spectres peuvent provenir soit de la dégradation de la matière organique effectuée par les microorganismes qui l'utilisent comme source nutritive, soit par des composés solubles issus des microorganismes se développant dans cette eau.

(a) Spectre UV avant concentration

(b) Spectre UV après concentration et dilution. Normalisation des courbes au point (0,2 ; 330 nm)

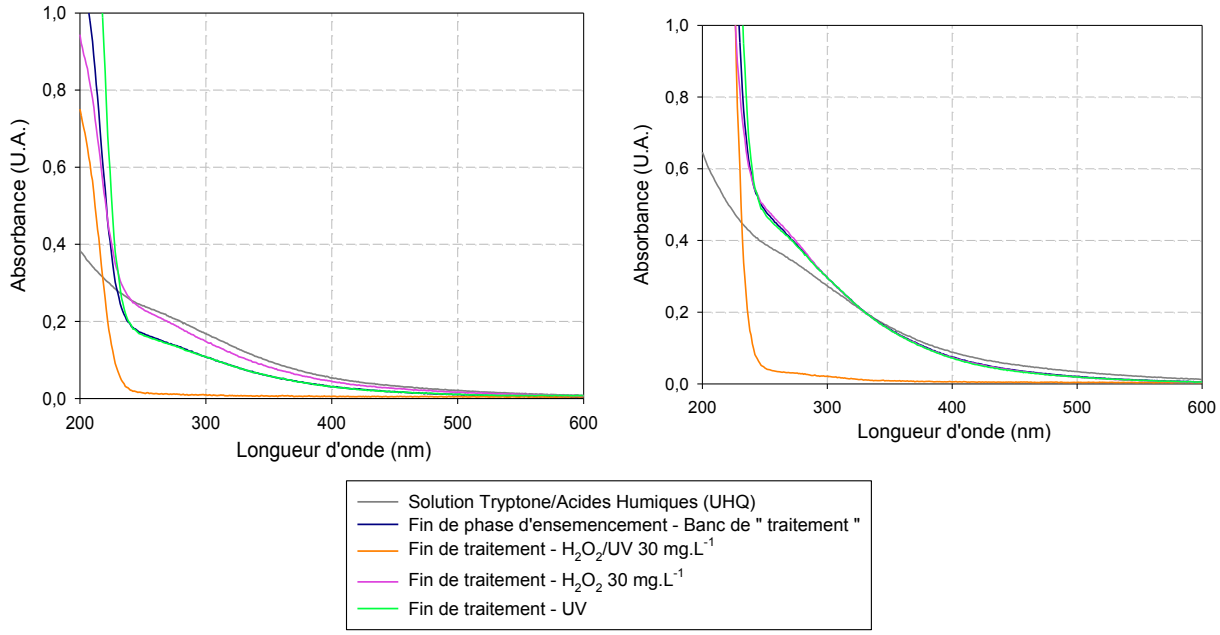
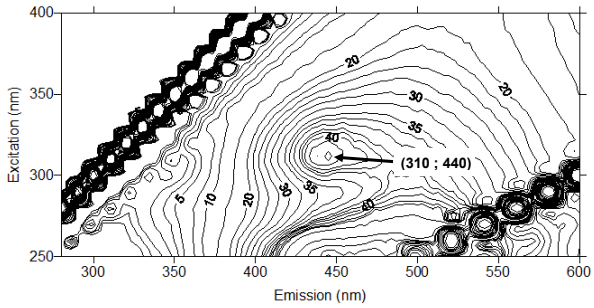


Figure 38 : Spectres UV-Visible selon l'étape de traitement

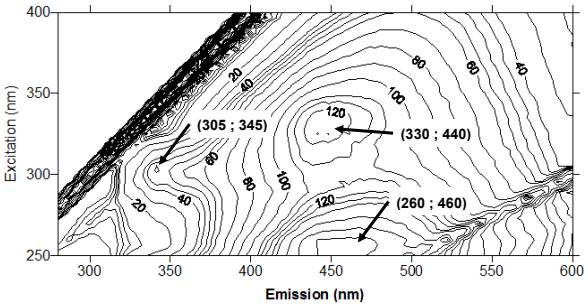
Ces résultats sont confirmés par le tracé des spectres de fluorescence 3-D qui montrent des différences notables sur les couples de longueurs d'onde excitation / émission selon la solution étudiée (Figure 39) :

- pour la solution d'ajout de matière organique tryptone / acides humiques : un maximum à 310 nm/440 nm,
- en fin de phase d'ensemencement : trois maxima à 330 nm/440 nm ; 260 nm/460 nm et 305 nm/345 nm,
- après application du traitement H_2O_2 ou UV : deux maxima à 330 nm/442-444 nm et 260 nm/451-455 nm,
- après application du traitement H_2O_2/UV : un maximum à 300 nm/430 nm.

(a) Solution d'ajout de MO

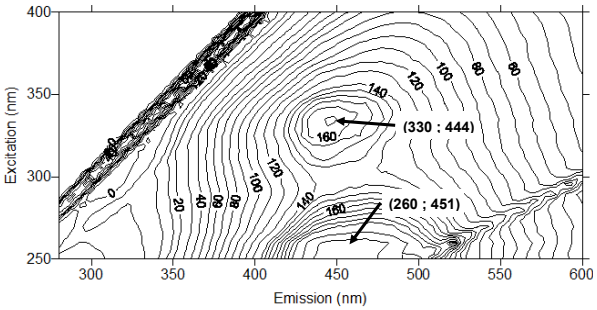


(b) Fin de phase d'ensemencement

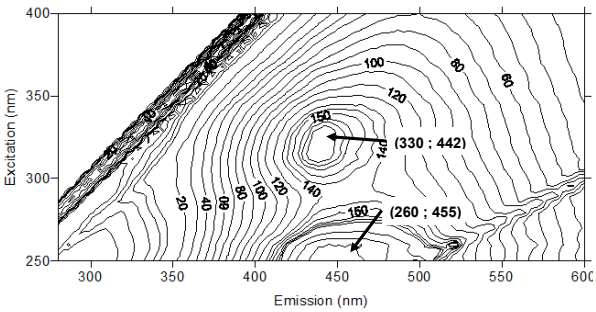


(c) Fin de traitement

UV



H_2O_2



H_2O_2/UV

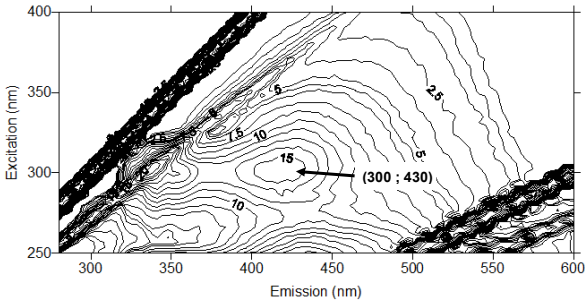


Figure 39 : Spectres de fluorescence (a) de la solution d'ajout de matière organique, (b) en fin de phase d'ensemencement (banc de « traitement »), (c) après application du traitement

Pour l'ensemble de ces solutions, le couple de longueurs d'onde excitation / émission (310-330 nm/440 nm), caractéristique des polymères d'acides humiques modèles utilisés dans cette étude, est présent.

Les solutions en fin de phase d'ensemencement présentent également deux zones singulières supplémentaires avec les couples de longueurs d'onde excitation / émission suivantes : 260 nm/460 nm et 305 nm/345 nm. Le premier couple 260 nm/460 nm n'est

pas visible sur la solution d'ajout de matière organique. Une telle zone appartient à la région des acides humiques, en étant très proche de celle des acides fulviques (Chen et al., 2003). Le fait de trouver cette zone caractéristique, uniquement en fin de phase d'ensemencement, peut être lié à l'accumulation des acides humiques au cours de cette période, qui la rend alors visible. Le second couple de longueurs d'onde 305 nm/345 nm correspond – d'après la Figure 37 – aux sous-produits microbiens solubles liés à la présence du consortium bactérien développé au cours de cette phase (Chen et al., 2003). Ces spectres de fluorescence confirment donc l'observation réalisée sur les spectres UV : l'eau à traiter contient à la fois de la matière organique apportée par le mélange tryptone / acides humiques mais également des sous-produits microbiens solubles formés par le contact de cette matière organique avec les microorganismes présents.

Suite aux traitements H_2O_2 ou UV, les zones d'émission caractéristiques des acides humiques (330 nm/442-444 nm et 260 nm/451-455 nm) sont toujours présentes avec des longueurs d'onde excitation / émission proches de celles rencontrées en fin de phase d'ensemencement (à 5 ou 10 nm près). Il n'y aurait ainsi pas de modification importante de la structure chimique de la matière organique qui conduirait alors à un déplacement des longueurs d'onde. Ces résultats confirment ainsi l'hypothèse émise lors des tracés des spectres UV (Figure 38a) et est parfaitement illustré par le suivi du $SUVA_{254}$ et de l'évolution de l'absorbance à 280 nm – caractéristique de l'aromaticité – qui montrent un faible abattement, synonyme que ces deux traitements modifient peu l'aromaticité de la matière organique (Tableau 17).

Tableau 17 : Evolution selon le traitement appliqué de (a) l'absorbance à 280 nm, (b) le $SUVA_{254}$

	Traitement	**UV**	**H_2O_2**		**H_2O_2/UV**		
	[H_2O_2] (mg.L^{-1})		**50**	**30**	**50**	**30**	**10**
Absorbance 280 nm (U.A.)	**Fin de phase d'ensemencement**	0,172	0,293	0,239	0,201	0,225	0,222
	Fin de phase de traitement	0,167	0,286	0,225	0,09	0,007	0,005
	Abattement	**- 2%**	**- 2%**	**- 6%**	**- 96%**	**- 97%**	**- 98%**
$SUVA_{254}$ (L.mg^{-1}.cm^{-1})	**Fin de phase d'ensemencement**	0,073	0,097	0,085	0,077	0,092	0,074
	Fin de phase de traitement	0,076	0,080	0,076	0,019	0,020	0,014
	Abattement	**+ 4%**	**- 18%**	**- 11%**	**- 75%**	**- 78%**	**- 81%**

En effet, l'irradiation par les UV-C de solutions d'acides humiques conduit à des réactions d'oxydation et à la formation d'espèces réactives de l'oxygène et de radicaux libres ($^{\bullet}OH$, $O_2^{-\bullet}$, H_2O_2) créés par la génération d'état excité (Lipski et al., 1999). Ainsi, les molécules présentant un fort poids moléculaire seront clivées en de plus petits composés (Buchanan et al., 2004 ; Corin et al., 1998 ; Kulovaara et al., 1996 ; Lipski et

al., 1999) pouvant si la dose UV est suffisante être minéralisés (Backlund, 1992 ; Thomson et al., 2004). Malgré cette modification de structure des substances humiques, les produits de photodégradation ont des spectres de fluorescence et d'absorption très proches des composés parents (Lipski et al., 1999) ne permettant pas d'observer de déplacements des bandes d'absorption ou d'émission (Figure 38 et Figure 39). De plus, les ajouts réguliers de matière organique contribuent au maintien des couples de longueurs d'onde définissant les acides humiques. La zone caractéristique du consortium bactérien visible sur les solutions en fin de phase d'ensemencement n'est plus observable après application des traitements H_2O_2 et UV. Le traitement UV conduit à un abattement, certes faible, mais notable, des paramètres microbiologiques dans l'eau pouvant expliquer l'absence de bandes dans cette zone. Cependant il est surprenant que la bande caractéristique des sous-produits microbiens ait disparu dans le cas du traitement H_2O_2, étant donné que ce traitement n'a pas permis d'éliminer de façon conséquente les bactéries dans l'eau circulante. Cependant, le peroxyde d'hydrogène étant un oxydant, il peut également réagir avec les composés cellulaires (lipides, protéines, acides nucléiques…) (Juven et Pierson, 1996 ; Lynch et Fridovich, 1978 ; Schurman, 2001) réduisant ainsi la bande à 305 nm/440 nm.

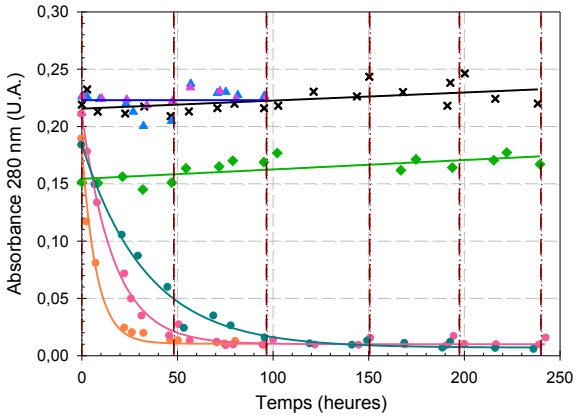
L'application du traitement H_2O_2/UV conduit, quant à lui, à des modifications importantes de la structure chimique de la matrice carbonée allant jusqu'à sa minéralisation. L'exploitation des spectres reportés dans les Figure 38 et Figure 39 montrent un abattement important de l'absorbance UV à 280 nm (97% environ – Tableau 17) et de l'intensité de fluorescence (abattement de 92% de la fluorescence spécifique pour le couple 330 nm/440 nm). Cette diminution d'intensité s'accompagne d'une modification du spectre de fluorescence qui ne présente plus qu'une bande caractéristique des acides humiques. Cependant, cette bande assimilée à une structure humique présente un déplacement hypsochrome de 30 nm de la bande d'excitation passant de 330 nm/440 nm en début de traitement à 300 nm/430 nm en fin de traitement. Ainsi, le traitement H_2O_2/UV modifie de manière importante la structure chimique de la matière organique. En effet, l'addition de peroxyde d'hydrogène aux ultraviolets conduit à la formation de radicaux hydroxyles qui réagiront de préférence avec les molécules de hauts poids moléculaires conduisant à la formation de composés de poids moléculaire plus faibles (Lamsal et al., 2011 ; Sarathy et Mohseni, 2007 ; Wang et al., 2006). Bien que les radicaux hydroxyles soient non sélectifs, leur réactivité sera également plus grande avec les liaisons insaturées de type $C = C$ et $C \equiv C$ qu'avec les liaisons saturées de type $C - H$ (Buxton et al., 1988). Ainsi, dans le cas d'une matrice carbonée complexe, la vitesse de réaction des radicaux hydroxyles augmentera avec le poids moléculaire des molécules présentes (Thomson et al., 2004 ; Westerhoff et al., 1999a). Avec l'application poussée du traitement, de tels composés peuvent alors être plus facilement minéralisés. Pourtant malgré la minéralisation observée, il reste une zone caractéristique sur le spectre de fluorescence. Il s'agit très certainement des acides humiques modifiés par le traitement mais aussi la part liée aux ajouts réguliers de matière organique dans le système, ne permettant pas leur élimination complète comme le montre les résiduels en carbone organique dissous et total présents (1 et 2 $mg.L^{-1}$ respectivement).

IV.3.3. Evolution temporelle des paramètres spectroscopiques UV au cours des traitements

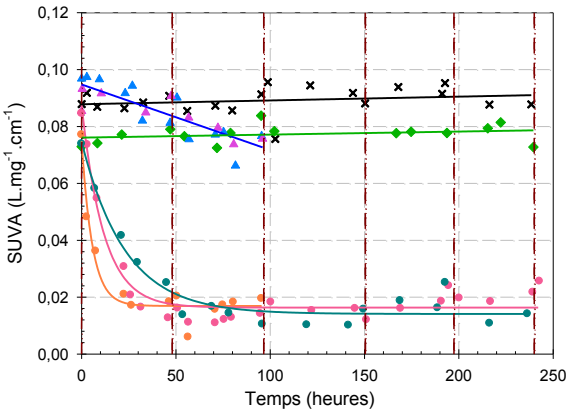
Les spectres UV des solutions traitées ont été analysés avec le suivi temporel de plusieurs paramètres :

- l'absorbance à 280 nm et le $SUVA_{254}$ pour étudier l'évolution de l'aromaticité de la matière organique (Figure 40a et b).
- l'absorbance à 400 nm pour étudier l'évolution de la couleur des solutions traitées. Les évolutions temporelles des absorbances à 400 nm et 465 nm caractéristiques de la couleur, sont strictement identiques pour ces deux longueurs d'onde, ainsi seules les absorbances obtenues à 400 nm sont présentées (Figure 40c).

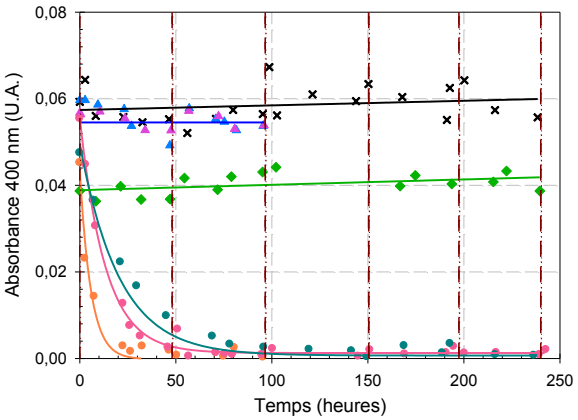
(a) Absorbance à 280 nm (Aromaticité)



(b) $SUVA_{254}$ (Aromaticité)



(c) Absorbance à 400 nm (Couleur)



Légende commune à l'ensemble des graphiques

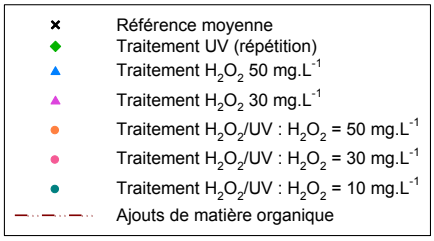


Figure 40 : Evolution temporelle de l'aromaticité et de la couleur lors de l'application des différents traitements
(a) absorbance à 280 nm ; (b) $SUVA_{254}$ et (c) absorbance à 400 nm

Les résultats reportés sur la Figure 40 confirment l'analyse précédente avec d'une part, une couleur et une aromaticité qui évolue peu pour les traitements UV et H_2O_2, et d'autre part, une évolution rapide de ces paramètres pour le traitement H_2O_2/UV. Pour le couplage, les abattements finaux obtenus pour un temps supérieur à 100 heures sont identiques quelles que soient les concentrations en peroxyde d'hydrogène appliquées : plus de 95% pour l'absorbance à 280 nm et plus de 80% pour le $SUVA_{254}$ (Tableau 17).

Cependant, ils sont atteints à des temps différents qui dépendent de la concentration en peroxyde d'hydrogène appliquée.

Le traitement UV suit la même pente que le banc de « référence » pour les trois paramètres mesurés. La minéralisation très faible du COD observée en fin d'essai (2%) ne permet pas d'abaisser quantitativement le $SUVA_{254}$. Ces résultats sont en accord avec différentes études, appliquant des UV-C sur une eau naturelle, publiées dans la littérature. Ainsi, Lamsal et al. (2011), sur une eau de rivière présentant un COD de 2,85 $mg.L^{-1}$ et un $SUVA_{254}$ de 0,032 $L.mg^{-1}.cm^{-1}$ obtiennent un abattement d'environ 4% sur le COD ; 7% sur le $SUVA_{254}$ et 13% sur l'absorbance à 254 nm pour une dose UV de 1,14 $J.cm^{-2}$. Ce faible impact des ultraviolets sur la matière organique est lié à son oxydation partielle conduisant à la formation de sous-produits intermédiaires. Sarathy et al. (2007) – bien qu'utilisant une eau ayant des caractéristiques initiales proches de cette étude (2,2 $mg.L^{-1}$ de COD et un $SUVA_{254}$ de 0,044 $L.mg^{-1}.cm^{-1}$) – n'observent aucun abattement de ces paramètres pour une dose UV de 1,4 $J.cm^{-2}$. Ainsi, l'efficacité du traitement UV semble limitée sur la modification de la structure chimique de la matière organique contenue dans les eaux à traiter.

Le traitement H_2O_2, quant à lui, semble montrer une diminution du $SUVA_{254}$ malgré la constance des absorbances à 280 nm et à 400 nm. Celle-ci semble davantage liée à sa définition. En effet, au cours du traitement, les teneurs en COD augmentent (passant de 3 $mg.L^{-1}$ à environ 4 $mg.L^{-1}$) tandis que l'absorbance à 254 nm reste constante avec une valeur moyenne de 0,28 U.A. (évolution identique à celle à 280 nm), il en résulte alors une diminution du $SUVA_{254}$. Ainsi, le traitement H_2O_2 n'entraîne qu'une faible modification de l'aromaticité de la matière organique.

Le traitement H_2O_2/UV, quant à lui, montre une modification importante de l'aromaticité de la matière organique et une élimination de la couleur dès les premières heures d'application du traitement. L'introduction de peroxyde d'hydrogène dans le milieu améliore nettement les performances du traitement UV seul. Des résultats similaires ont été obtenus par Goslan et al. (2006), qui montrent que l'ajout de 68 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène (2,0 $mmol.L^{-1}$) à un traitement UV-C (22 $J.cm^{-2}$) conduit à un abattement de l'absorbance à 254 nm de 94% contre moins de 5% en UV et une diminution du COD de 78% contre 0%. Ainsi l'abattement du $SUVA_{254}$ dans ce cas d'application du traitement H_2O_2/UV est alors de 73% alors qu'il est inférieur à 5% dans le cas des UV-C seuls. Lamsal et al. (2011) montrent également une amélioration des abattements après ajout de 23 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène à une dose UV-C de 1,2 $J.cm^{-2}$. Pour ces conditions opératoires, il obtient un abattement de 60% et 23% respectivement pour l'absorbance à 254 nm et le COT, contre 11% et 3% dans le cas de l'application des UV-C seuls.

L'application d'une concentration plus importante en peroxyde d'hydrogène conduit également à un abattement plus rapide des absorbances et du $SUVA_{254}$ (Figure 40). Une quantité plus élevée en H_2O_2 conduit à la formation de radicaux hydroxyles supplémentaires, permettant un plus grand nombre de réactions avec la matière organique. Il y a alors une destruction plus importante des liaisons conjuguées, conduisant à l'ouverture des cycles aromatiques, qui se traduit par une perte plus rapide de l'aromaticité (Sarathy et Mohseni, 2007). En effet, bien que les radicaux hydroxyles ne réagissent pas de manière sélective, il semble que sa vitesse de réaction avec la

matière organique dépende de l'aromaticité de cette dernière (Thomson et al., 2004 ; Westerhoff et al., 1999a) : plus l'aromaticité sera importante, plus $^{\bullet}OH$ sera réactif avec ces structures. Les acides humiques présentent, par ailleurs, des composés de hauts poids moléculaires qui ont alors tendance à être de nature plus aromatique, conférant aux radicaux hydroxyles un nombre de sites de réactions plus importants (Westerhoff et al., 1999a).

L'augmentation du temps d'irradiation conduit également à un abattement plus important de l'absorbance à 254 et 280 nm (Sarathy et Mohseni, 2007). Ceci est d'autant plus vrai dans cette étude où la concentration en peroxyde d'hydrogène appliquée est maintenue constante tout au long des essais, ce qui permet une formation permanente de radicaux hydroxyles dans le système. Les quantités formées sont d'ailleurs de plus en plus importantes au fur et à mesure que le traitement se poursuit. En effet, la diminution de l'absorbance à 254 nm (évolution identique à celle à 280 nm) conduit à une transmittance plus importante et donc une dose UV appliquée plus forte. Une quantité plus grande de peroxyde d'hydrogène peut alors être photolysée.

Les évolutions temporelles de ces absorbances et du $SUVA_{254}$ permettent également de montrer que leurs diminutions commencent dès l'application du traitement contrairement à la minéralisation du COT (seulement à partir de 2 heures dans le cas de 50 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène et 8 heures pour des concentrations de 30 et 10 $mg.L^{-1}$). Il se produit donc, dans un premier temps, une destruction des liaisons aromatiques avec une minéralisation ultérieure (Goslan et al., 2006). Il est à noter que les valeurs d'absorbance et de $SUVA_{254}$ se stabilisent à de valeurs faibles, mais non nulles. Il semblerait qu'un état d'équilibre se soit établi entre les ajouts réguliers de matière organique et la photooxydation de celle-ci.

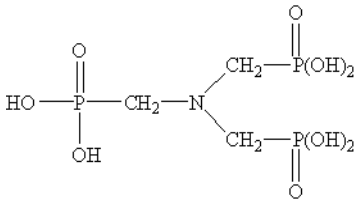
V. Impacts des traitements sur les produits de conditionnement sélectionnés

Le couplage H_2O_2/UV conduit à la formation de radicaux hydroxyles, siège des réactions d'oxydation. Certains inhibiteurs de corrosion et d'entartrage utilisés pour le conditionnement des eaux des TAR sont des composés organiques, ce qui les rend potentiellement oxydables par le traitement. Il est donc important d'étudier l'impact du couplage sur de tels composés, afin d'appliquer correctement ces additifs en présence d'un tel traitement.

Les produits de conditionnement choisis représentent différentes familles d'inhibiteurs de corrosion et d'entartrage utilisés sur des tours aéroréfrigérantes :

- AMP ($N(CH_2PO_3H_2)_3$) et HEDP ($C_2H_8O_7P_2$) sont des inhibiteurs mixtes appartenant à la famille des phosphonates (Figure 41).
- A-REF 610 est un inhibiteur cathodique. Il s'agit d'un polycarboxylate de zinc.

(a) acide nitrilométhylènetriphosphonique (AMP)



(b) acide 1,hydroxyethylidene,1-1-diphosphonique (HEDP)

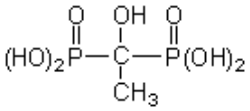


Figure 41 : Rappel des formules développées de (a) AMP et (b) HEDP

Contrairement au produit A-REF 610, la connaissance des structures des molécules AMP et HEDP permet de définir les teneurs initiales en COT et phosphore total selon la concentration utilisée (Tableau 18).

Tableau 18 : Teneurs initiales « théoriques » en carbone organique total et phosphore total suite à l'introduction d'AMP ou HEDP

Produit	Concentration en produit (mg.L^{-1})	COT (mg.L^{-1})	Phosphore total (mg$_P$.L^{-1})
AMP	10	1,2	3,1
	50	6,0	15,5
HEDP	10	1,2	3,0
	50	5,8	15,0

Le tracé des spectres UV de chacun des composés, à une concentration de 50 mg.L^{-1} pour AMP et HEDP, et 10 mg.L^{-1} pour A-REF 610, ne montre aucune absorbance notable à 254 nm. Ces solutions étant transparentes à la radiation UV, ils ne se dégraderont pas par photolyse directe et n'induiront aucun effet d'écran pour le traitement H_2O_2/UV.

V.1. Etude de l'oxydation de l'AMP et HEDP par le système H_2O_2/UV

Pour chacun des additifs choisis, le traitement H_2O_2/UV a été testé pour deux concentrations en produit de conditionnement (10 et 50 mg.L^{-1}) avec une concentration initiale en peroxyde d'hydrogène de 30 mg.L^{-1} et une dose UV de 6 J.cm^{-2} (lampe UV à basse pression de mercure de 33 W$_{électrique}$). Les essais ont été réalisés dans le pilote de laboratoire, en fonctionnement batch, avec une seule introduction du peroxyde d'hydrogène en début d'essai. Le suivi cinétique des deux composés a été réalisé par l'analyse du COT et du taux de conversion du phosphore (total (P_{tot})) en orthophosphates (PO_4) calculé de la manière suivante [72] :

$$\%PO_4 = \frac{[PO_4]_t - [PO_4]_{t=0}}{[P_{tot}]_t - [PO_4]_{t=0}} \times 100 \qquad [72]$$

où $\%PO_4$ taux de conversion du phosphore en orthophosphates (%)

$[PO_4]_{t=0}$ concentration initiale en orthophosphates (exprimé en équivalent atome de phosphore mg.L^{-1} de P)

$[PO_4]_t$ concentration en orthophosphates à l'instant t (exprimé en équivalent atome de phosphore mg.L^{-1} de P)

$[P_{tot}]_t$ concentration en phosphore total à l'instant t (exprimé en équivalent atome de phosphore mg.L^{-1} de P)

Les résultats reportés sur la Figure 42 montrent que le traitement H_2O_2 seul n'induit pas ou très peu de transformation des molécules AMP et HEDP en orthophosphates. Une conversion de 1,8 ± 0,4 %, rencontrée dès le début d'essai, est observable pour l'AMP sans évolution particulière ensuite. De tels phosphonates sont d'ailleurs employés comme stabilisants lors de la fabrication du peroxyde d'hydrogène (Leigh, 1981) d'où une faible réactivité de l'oxydant avec ces produits.

Le traitement couplé H_2O_2/UV, quant à lui, montre une formation nette d'orthophosphates pour atteindre les taux de conversion suivants au bout de 8 heures d'irradiation :

- AMP
  - 22,1% pour une concentration initiale de 50 mg.L^{-1} de ATMP.
  - 32,4% pour une concentration initiale de 10 mg.L^{-1} de ATMP.
- HEDP
  - 14,6% pour une concentration initiale de 50 mg.L-1 de HEDP.
  - 37,1% pour une concentration initiale de 10 mg.L-1 de HEDP.

Cependant, malgré cette conversion visible en orthophosphates, l'application des traitements H_2O_2 et H_2O_2/UV n'entraînent aucune modification des teneurs en COT et phosphore total. Ces dernières restent constantes sur les 8 heures d'essai et sont les suivantes :

- AMP
  - 50 mg.L^{-1} de ATMP : COT = 6,5 ± 0,4 mg.L^{-1}, P_{total} = 20,1 ± 2,8 mg.L^{-1} de P
  - 10 mg.L^{-1} de ATMP : COT = 2,4 ± 0,1 mg.L^{-1}, P_{total} = 4,1 ± 0,4 mg.L^{-1} de P
- HEDP
  - 50 mg.L^{-1} de HEDP : COT = 6,7 ± 0,3 mg.L^{-1}, P_{total} = 19,4 ± 2,2 mg.L^{-1} de P
  - 10 mg.L^{-1} de HEDP : COT = 2,1 ± 0,2 mg.L^{-1}, P_{total} = 3,9 ± 0,1 mg.L^{-1} de P

(a) AMP (b) HEDP

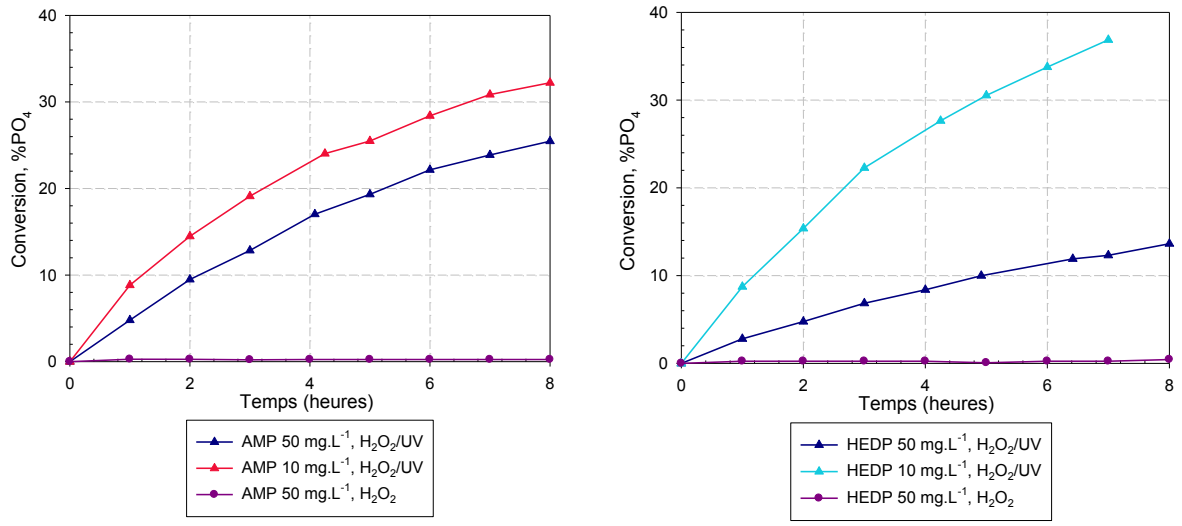


Figure 42 : Evolution temporelle de la conversion en s selon le traitement et la concentration en (a) ATMP, (b) HEDP

L'application du couplage H_2O_2/UV ne conduit pas à la transformation totale des phosphonates en orthophosphates : plus de 65% de la molécule mère reste dans le

système et continuera de jouer son rôle d'anticorrosion et d'antitartre. Il s'avère que la destruction de ces composés n'induit pas obligatoirement une perte d'efficacité de ces produits de conditionnement car les orthophosphates libérés sont également de bons inhibiteurs de corrosion. Ils présentent néanmoins l'inconvénient d'avoir des propriétés eutrophisantes lors des rejets. Les phosphonates sont ainsi plus facilement utilisés sur les tours aéroréfrigérantes. Ces derniers présentent d'ailleurs l'avantage d'être peu sensibles à l'hydrolyse grâce aux liaisons $P-C-P$; mais ne sont pas biodégradables. De plus, si la concentration employée est trop élevée, ils peuvent dissoudre les précipités anodiques formés conduisant à une perte d'efficacité de l'additif utilisé (Béranger et Mazille, 2002 ; GE Infrastructure - Water & Process Technologies, 2007 ; Moran, 2006).

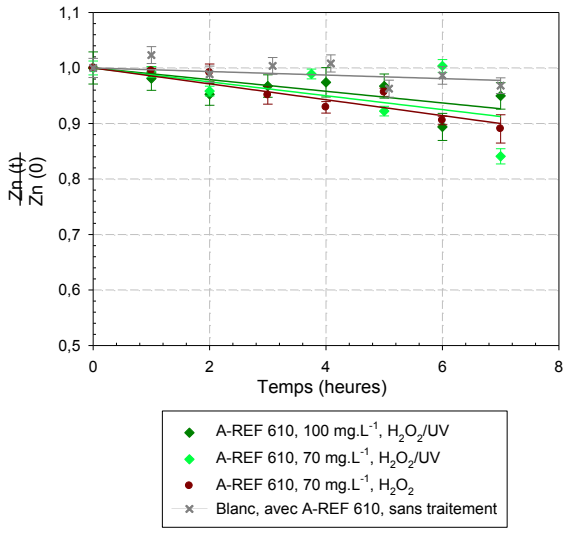
V.2. Etude de l'oxydation de l'A-REF 610 par le système H_2O_2/UV

L'A-REF 610 est un polycarboxylate de zinc, présentant une base organique susceptible de subir une réaction d'oxydation. Celui-ci est suivi au travers de la mesure du zinc dissous et du carbone organique total (polycarboxylate).

Les traitements d'oxydation ont été réalisés pour deux concentrations initiales en peroxyde d'hydrogène (10 et 30 mg.L^{-1}) et deux concentrations en A-REF 610 (70 et 100 mg.L^{-1}). Pour ces conditions :

- 70 mg.L^{-1} d'A-REF 610 apporte 0,6 ± 0,2 mg.L^{-1} de zinc dissous et 1,9 ± 0,1 mg.L^{-1} de COT.
- 100 mg.L^{-1} d'A-REF 610 apporte 0,7 ± 0,1 mg.L^{-1} de zinc dissous et 2,7 ± 0,1 mg.L^{-1} de COT.

(a) Zinc dissous : Influence du traitement



(b) Zinc dissous : Influence de [H_2O_2]

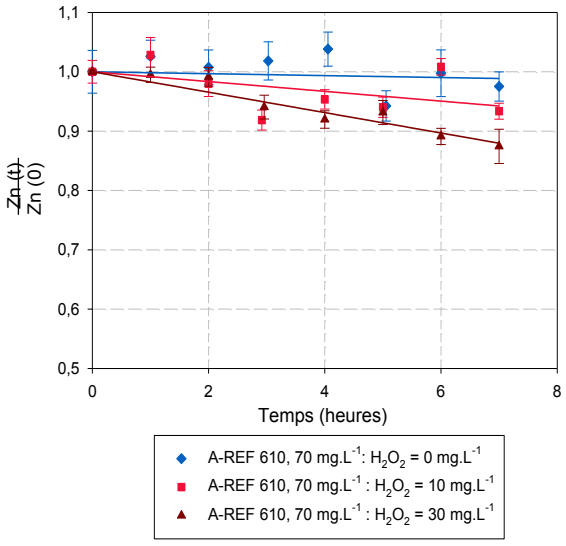


Figure 43 : Evolution temporelle relative de la teneur en zinc dissous selon (a) le traitement appliqué – [H_2O_2]$_0$ = 30 mg.L^{-1}, (b) la concentration en H_2O_2 – [A-REF 610]$_0$ = 70 mg.L^{-1})

Les résultats obtenus pour les traitements H_2O_2 et H_2O_2/UV (Figure 43a et Figure 44) montrent que, globalement, les teneurs en zinc dissous et en COT sont maintenus dans le milieu quel que soit le traitement appliqué, avec une perte respective de 9% et 20%

après 7 heures de traitement, pour une concentration initiale de 30 mg L^{-1} en H_2O_2. Ces résultats indiquent qu'une petite partie du zinc a précipité sous forme d'hydroxyde de zinc (pH voisin de 8), La réaction de précipitation reste cependant modérée (9%) malgré l'abattement plus fort du COT (20%).

L'influence de la concentration en peroxyde d'hydrogène (0, 10 et 30 mg.L^{-1}) conduit à une perte en zinc proportionnelle à la quantité de peroxyde d'hydrogène introduite (Figure 43b). Celle-ci est inférieure à 10% pour le zinc et est de 6% pour le COT dans le cas d'une concentration de 30 mg.L^{-1} (similaire à l'absence de traitement). Cette quantité de zinc dissous reste suffisante pour maintenir l'effet inhibiteur de ce composé bien que sa structure carbonée soit partiellement détruite (un résiduel minimal de 0,5 mg.L^{-1} en zinc dissous est recommandé).

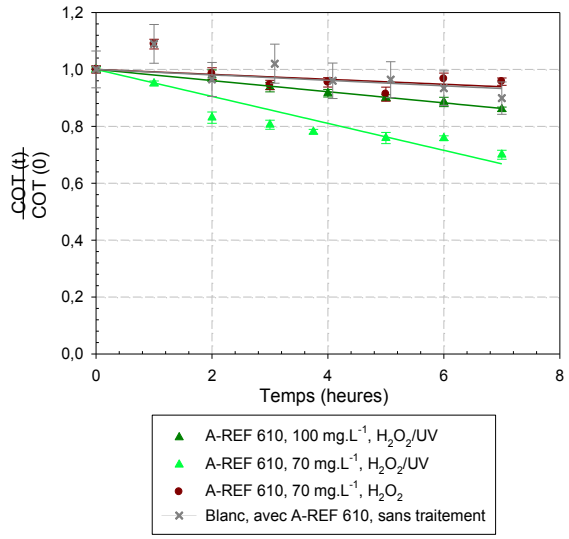


Figure 44 : Evolution temporelle relative de la teneur en COT selon le traitement appliqué – $[H_2O_2]_0$ = 30 mg.L^{-1}

En conclusion, bien que les radicaux hydroxyles réagissent avec les structures carbonées des inhibiteurs (phosphonates, polycarboxylate de zinc), il n'en reste pas moins que les agents actifs (ions phosphate ou zinc dissous) restent en quantités suffisantes pour maintenir les effets inhibiteurs de ces produits de conditionnement. Ceux-ci seront maintenus dans une limite raisonnable de la durée du traitement. Il faudra alors être vigilant à maintenir un résiduel conséquent notamment dans le cas de l'A-REF pour respecter la teneur résiduelle en zinc recommandée (0,5 à 1 mg.L^{-1}).

VI. Application du traitement au sein d'une TAR

Le couplage H_2O_2/UV présente bien plus d'efficacité que l'utilisation seule de chacun des traitements UV ou H_2O_2.

Bien que le traitement UV permette une désinfection de l'eau, le rayonnement germicide n'atteint pas les bactéries présentes dans les biofilms ce qui limite son efficacité. De plus, il conduit seulement à une modification partielle de la matière organique laissant une quantité de carbone potentiellement disponible à la flore microbienne.

Le traitement H_2O_2, bien que montrant une efficacité sur les biofilms, n'a aucun impact sur les bactéries présentes dans l'eau, ni sur la matière organique. L'utilisation de cet oxydant peut conduire à une adaptation des microorganismes qui vont alors le neutraliser rapidement grâce à des enzymes (catalase, peroxydase, superoxyde dismutase). Il s'avère d'ailleurs que chez *Legionella*, la majorité des souches sont positives à la catalase (Weaver, 1978) et présentent un niveau de superoxyde dismutase (Pine et al., 1984). Dans le cas de *Legionella pneumophila* et *Legionella gormanii*, cette activité catalasique est extrêmement faible, voire inexistante (Hoffman et al., 1983 ; Pine et al., 1979) mais les enzymes peroxydases sont davantage présentes. Les légionelles peuvent ainsi, comme bon nombre d'autres microorganismes, développer des résistances vis-à-vis du peroxyde d'hydrogène. Il s'avère néanmoins que *Legionella* est tout de même sensible à de faibles niveaux de peroxyde d'hydrogène (Hoffman et al., 1983). Cependant ces espèces n'étant pas les seules présentes dans le système, une dérive peut alors se produire, conduisant à l'absence du maintien d'une concentration constante en peroxyde d'hydrogène. Cette absence en oxydant ne permet donc plus une action désinfectante sur les légionelles potentiellement présentes dans le milieu. Celles-ci peuvent alors se développer, conduisant à un risque légionelle beaucoup plus important.

Le couplage H_2O_2/UV, quant à lui, conduit à des efficacités importantes tant sur l'élimination des biofilms que sur la désinfection de l'eau, ainsi qu'une élimination de la matière organique suite à sa minéralisation. Un appauvrissement en carbone du milieu peut alors potentiellement limiter un développement bactérien. Cependant, il faut garder à l'esprit qu'une adaptation des bactéries face au peroxyde d'hydrogène est possible malgré l'application continuelle des ultraviolets. La modification de la matière organique et les faibles teneurs en carbone organique n'empêchent d'ailleurs pas ce phénomène.

Les essais réalisés en laboratoire laissent penser que l'application d'une concentration de 30 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène avec une dose UV-C de 14 $J.cm^{-2}$ est un bon compris pour ce type d'eau. En effet, les résultats montrent, dans ces conditions, de bons résultats de désinfection qui s'avèrent être identiques à ceux obtenus pour une concentration en peroxyde d'hydrogène supérieure. Aucune mise en place du phénomène de consommation excessive de peroxyde d'hydrogène et donc une adaptation des bactéries n'est par ailleurs observée.

Il est tout de même possible d'envisager un abaissement de cette concentration en peroxyde d'hydrogène selon la qualité de l'eau utilisée dans la tour aéroréfrigérante. En effet, les teneurs en carbone organique dissous et total utilisées dans cette étude de laboratoire sont similaires à celles rencontrées sur des eaux naturelles (rivières…). Or, certaines TAR peuvent fonctionner avec des eaux contenant des teneurs en carbone plus faibles, comme dans le cas de l'utilisation d'eau potable (COT < 1 $mg.L^{-1}$). Aucune conclusion ne peut être faite sur la dose UV à appliquer car celle-ci est similaire sur l'ensemble des essais de l'étude. Cependant elle doit être suffisante pour générer des radicaux hydroxyles afin de maintenir une efficacité du système. Une diminution trop importante de l'énergie lumineuse conduirait à des résultats identiques à ceux observés avec la diminution de la concentration en peroxyde d'hydrogène.

CHAPITRE 4 : APPLICATION DU TRAITEMENT H_2O_2/UV SUR UNE TOUR AEROREFRIGERANTE – COMPARAISON AVEC LE TRAITEMENT AU DIOXYDE DE CHLORE

Les essais de laboratoire ont montré l'efficacité de désinfection du système H_2O_2/UV sur une eau contaminée et chargée en matière organique. Ce couplage a ainsi pu être appliqué au traitement de l'eau d'une tour aéroréfrigérante. Dans le cadre du projet LEGIOSECURE, l'efficacité de l'oxydation radicalaire a été comparée à celle du dioxyde de chlore. Ces traitements ont été appliqués sur deux tours aéroréfrigérantes mises à disposition par le Conseil général de l'Isère (CG38).

I. Description et caractéristiques du site d'étude

I.1. Présentation de l'installation

Les bâtiments du Conseil général de l'Isère (CG38) sont équipés d'un système de climatisation dont le schéma de principe est décrit dans la Figure 45. Celui-ci est constitué de deux circuits indépendants et identiques, comprenant chacun : un groupe froid (GF) utilisé alternativement selon le besoin en climatisation, un échangeur disposé dans la tour permettant le refroidissement du fluide caloporteur et un circuit d'eau secondaire dispersée sur le corps d'échange de celle-ci. Ces TAR se classent dans la catégorie des tours aéroréfrigérantes humides à tirage forcé (par l'intermédiaire de ventilateurs) et fermées (petit volume du circuit secondaire d'eau) (Annexe A).

Dans le cadre de cette étude, les circuits d'eau secondaire (limités à la tour aéroréfrigérante) recevront soit un traitement au dioxyde de chlore, soit un traitement d'oxydation radicalaire par le couplage H_2O_2/UV.

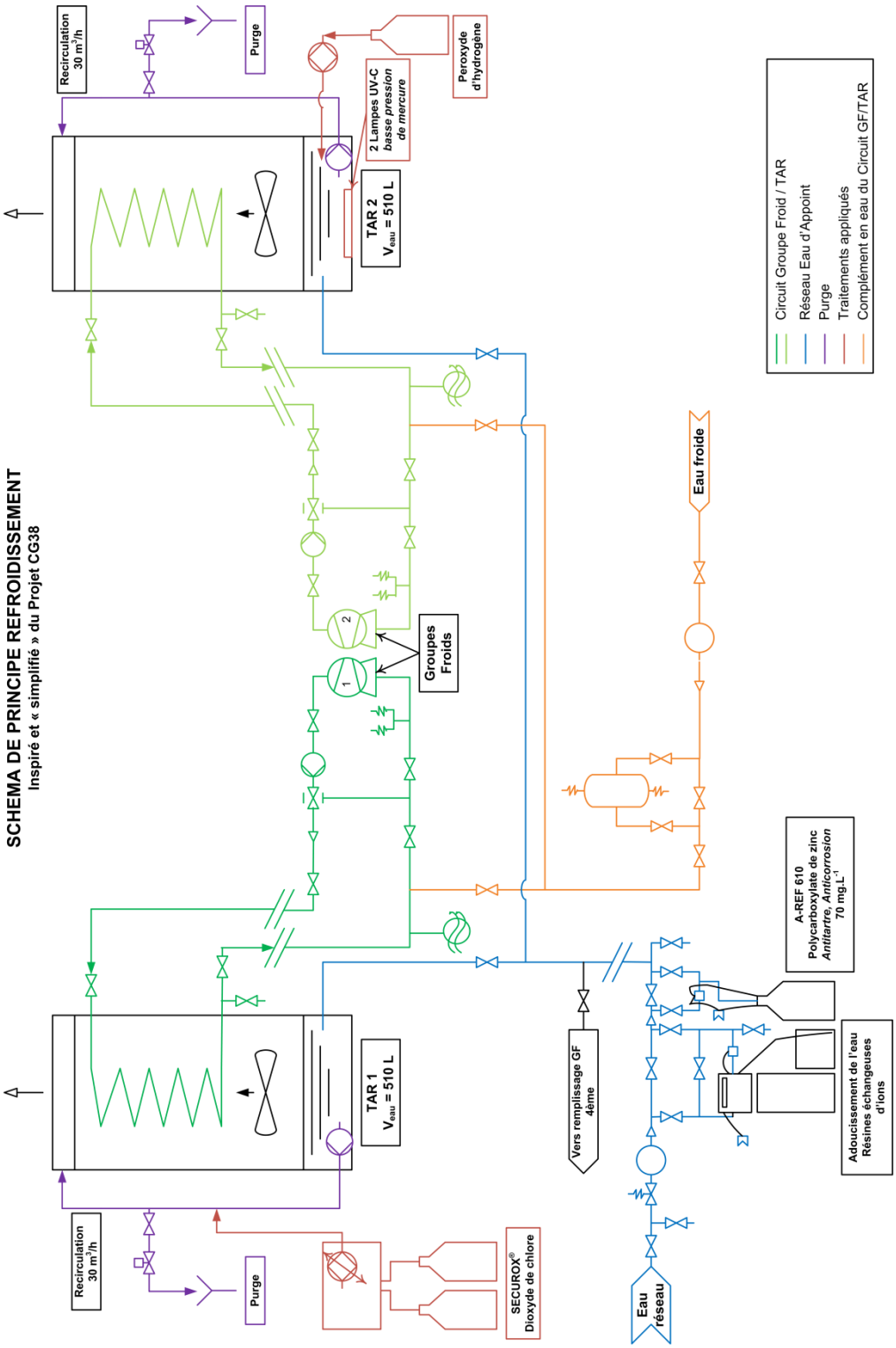


Figure 45 : Schéma de principe du refroidissement au Conseil général de l'Isère

I.1.1. Fonctionnement

Dans une tour fermée, le fluide du procédé à refroidir circule dans un échangeur tubulaire disposé dans la tour aéroréfrigérante (Figure 46). Le refroidissement est assuré par l'évaporation E d'une partie de l'eau de la tour amenée à un débit de recirculation Q ($Q \approx 30\ m^3.h^{-1}$) depuis le bassin de rétention jusqu'en haut de celle-ci. La dispersion de l'eau sur l'échangeur conduit, par un transfert de chaleur air-eau, à un refroidissement du fluide se trouvant dans le circuit fermé. Afin de compenser la perte en eau due à l'évaporation, un appoint d'eau A est nécessaire. Celui-ci n'empêche pas l'effet de concentration des sels minéraux contenus dans l'eau de circulation, quantifié par le facteur de concentration R_C [73].

$$R_C = \frac{Salinité\ totale\ de\ l'eau\ du\ circuit}{Salinité\ totale\ de\ l'eau\ d'appoint} \qquad [73]$$

Afin de maîtriser ce phénomène, de l'eau est soutirée de la TAR via une purge de déconcentration (P_D).

Une perte d'eau peut également avoir lieu par entraînement vésiculaire E_V. Il s'agit d'eau directement entraînée dans l'atmosphère sous forme de gouttelettes finement divisées. De tels aérosols peuvent donc être inhalés, et s'ils sont contaminés par des légionelles pathogènes, l'individu concerné pourra potentiellement développer une légionellose. Ce terme d'entraînement vésiculaire doit être inférieur à 0,01% du débit de recirculation d'eau Q de la TAR selon l'arrêté du 13 décembre 2004 (Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, 2004). La présence de pare-gouttelettes en tête de TAR permet de limiter au mieux ce phénomène et de satisfaire la norme.

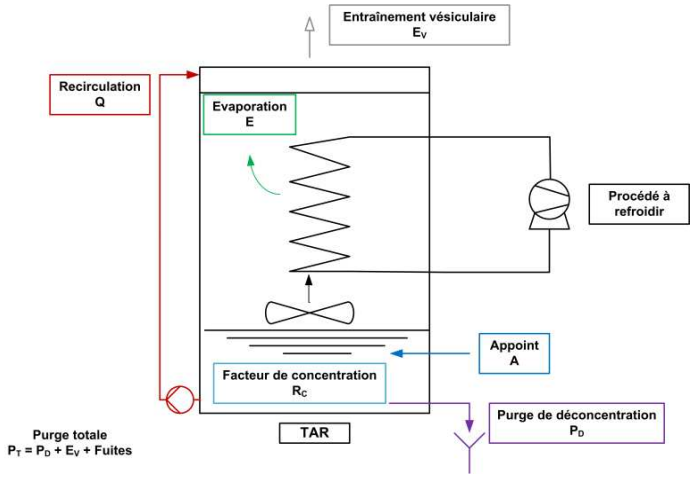


Figure 46 : Fonctionnement d'une tour aéroréfrigérante et notations employées

L'ensemble de l'eau quittant le système est défini comme la purge totale (P_T). Elle prend en compte la purge de déconcentration de la TAR, l'entraînement vésiculaire et d'éventuelles fuites.

I.1.2. Caractéristiques et réglages

Les tours aéroréfrigérantes sont des TAR GEA de type BF-27-4/2P. Elles sont utilisées tous les ans sur la période « estivale », qui s'étend d'avril à octobre, pour la climatisation des bâtiments. Au quotidien, leur fonctionnement est lié à celui des groupes froids, qui sont utilisés uniquement du lundi au vendredi, de 6 heures à 22 heures, selon les besoins

et demandes en climatisation. Le volume d'eau présent dans chaque TAR est de 510 litres, se limitant à 405 litres dans le bassin de rétention lorsqu'elle est en fonctionnement. La recirculation de l'eau, maintenue 24/24h, se fait à l'aide d'une pompe centrifuge (Leroy-Somer LT 70) à un débit moyen de 30 $m^3.h^{-1}$. Les ventilateurs à la base des tours, fonctionnent selon deux régimes (petite ou grande vitesse) dont la mise en route est asservie à la température de l'eau de la TAR.

Le contrôle de la concentration des sels dissous au sein de la TAR s'effectue par une mesure de conductivité. Le débit de purge est alors asservi au débit d'appoint afin de maintenir un facteur de concentration proche de 2.

I.1.3. Conditionnement de l'eau

L'eau d'appoint utilisée provient du réseau d'eau de consommation de la ville de Grenoble adoucie grâce à des résines échangeuses d'ions (dont les caractéristiques sont présentées en Annexe F). L'adoucissement est réglé de manière à maintenir une fuite en dureté comprise entre 1 et 3°F. Cette eau est également conditionnée avec un antitartre et anticorrosion à base d'A-REF 610 (polycarboxylate de zinc) à une concentration de 70 $mg.L^{-1}$. Ce produit est injecté grâce à une pompe doseuse pilotée par un compteur à impulsion et est contrôlé mensuellement grâce à un bilan matière (consommation de produit par rapport à la consommation d'eau d'appoint).

I.1.4. Traitements de désinfection

Avant la mise en place des traitements au dioxyde de chlore et du couplage H_2O_2/UV, l'eau des deux tours aéroréfrigérantes (campagnes 2009 et 2010) étaient traitées à l'isothiazolone et au 2,2 dibromo-3-nitrilopropionamide (DBNPA). Ces deux biocides non-oxydants sont appliqués, de manière alternative, en traitement choc au sein du système : 200 $mg.L^{-1}$ d'isothiazolone en début de semaine et 300 $mg.L^{-1}$ de DBNPA en milieu de semaine. Ils présentent un mode d'action sélectif sur les microorganismes en réagissant avec des constituants cellulaires précis ou en perturbant leur métabolisme. Cette sélectivité nécessite une application alternée afin d'éviter une résistance des souches bactériennes (Keister, 2008 ; Leteneur, 2003). Alors que le DBNPA est facilement biodégradable, l'isothiazolone présente un effet persistant, pouvant conduire à des rejets écotoxiques dans l'environnement.

I.1.5. Périodes d'essai

Les tours aéroréfrigérantes, utilisées dans un but de climatisation, ne sont en fonctionnement que sur la période estivale. Les essais ont ainsi débuté lors de la remise en route des deux TAR, après une phase de nettoyage. Il est réalisé trois campagnes d'essais, d'une durée de 8 semaines chacune, définies de la sorte :

- essai 1 : du 11 mai au 6 juillet 2011,
- essai 2 : du 6 juillet au 31 août 2011,
- essai 3 : du 31 août au 26 octobre 2011.

I.2. Caractérisation fonctionnelle des TAR

Afin de pouvoir exploiter les résultats obtenus lors des essais, il est nécessaire de vérifier le comportement des tours aéroréfrigérantes grâce à des bilans matière. La

détermination des puissances échangées au sein des TAR est aussi une donnée essentielle permettant de savoir si les tours aéroréfrigérantes présentent des fonctionnements similaires et ainsi de comparer les traitements appliqués.

I.2.1. Bilans matière

Un bilan matière a été réalisé sur les deux tours afin d'avoir une vision globale de leur fonctionnement. Ce bilan répond à l'équation [74] qui exprime que le flux massique d'une espèce X entrant dans le système est similaire au flux massique de cette même espèce en sortie de tour :

$$A \times (Concentration\ X)_{appoint} = P_T \times (Concentration\ X)_{purge} \quad [74]$$

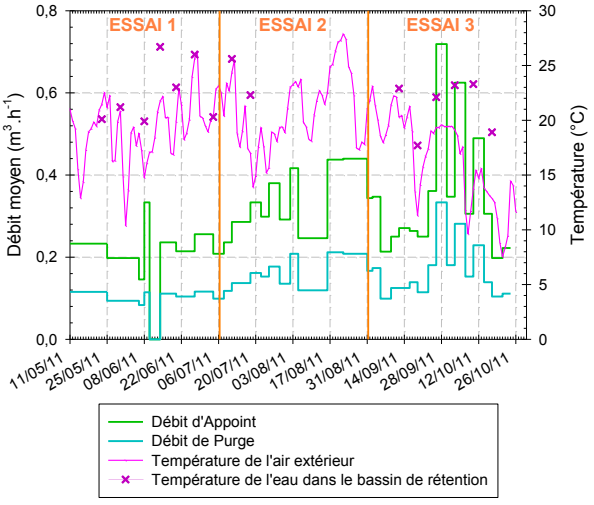
où A débit d'appoint ($m^3.h^{-1}$)
P_T débit de purge totale ($m^3.h^{-1}$)
$Concentration\ X$ concentration d'une espèce X ($mg.L^{-1}$)

En considérant la salinité de l'eau à la place de la concentration X, l'équation précédente conduit à une relation [75] reliant les débits d'appoint A et de purge totale P_T avec le facteur de concentration R_C :

$$P_T = \frac{A}{R_C} \quad [75]$$

Le bilan matière sur chacune des tours en régime de fonctionnement a été réalisé sur la totalité de la campagne d'essais (avril à octobre 2011) à partir des relevés de compteurs volumétriques de l'eau d'appoint et de purge (Figure 47) ainsi que des facteurs de concentration moyens calculés à partir des mesures de conductivité (Figure 48).

(a) Tour traitée au dioxyde de chlore



(b) Tour traitée par H_2O_2/UV

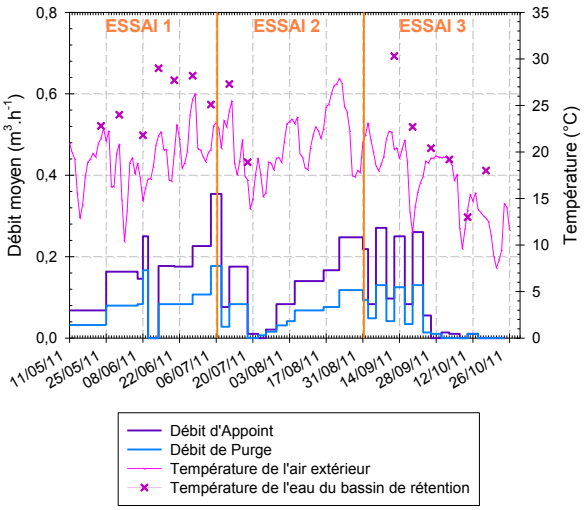


Figure 47 : Evolution temporelle des débits d'appoint et de purge des TAR

Pour la durée des essais, les débits moyens sont :

- A = 0,12 $m^3.h^{-1}$ et P_D = 0,06 $m^3.h^{-1}$ pour la TAR traitée par le couplage H_2O_2/UV,
- A = 0,29 $m^3.h^{-1}$ et P_D = 0,14 $m^3.h^{-1}$ pour la TAR traitée au dioxyde de chlore.

Ces résultats indiquent que les débits de la tour au dioxyde de chlore sont 2,4 fois plus importants que ceux de la tour traitée avec le couplage H_2O_2/UV.

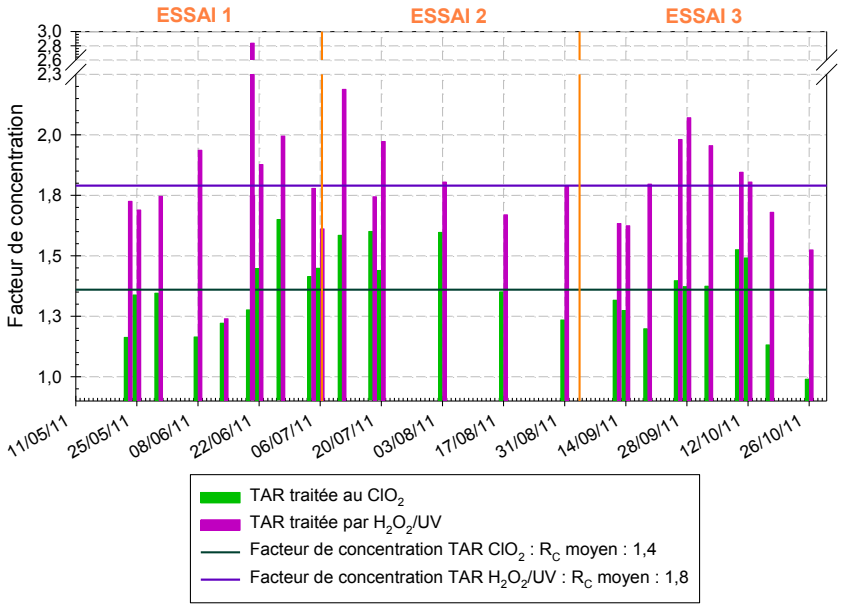


Figure 48 : Evolution temporelle des facteurs de concentration

De même, les facteurs de concentration moyens calculés sur la durée des essais montrent une différence nette dans le réglage des deux tours avec :

- R_C = 1,8 pour la TAR traitée par le couplage H_2O_2/UV,
- R_C = 1,4 pour la TAR traitée au dioxyde de chlore.

L'intégration de ces données dans le bilan matière conduit aux résultats reportés dans le Tableau 19. Pour ces calculs, l'entraînement vésiculaire et les fuites ont été négligés en première approximation. Dans ce cas, la purge totale P_T devient égale à la purge de déconcentration P_D.

Tableau 19 : Récapitulatif des bilans en débit

	$P_D (m^3.h^{-1})$	$\frac{A\ (m^3.h^{-1})}{R_C}$	**Ecart (%)**	E_V + Fuites $(m^3.h^{-1})$
Tour traitée par H_2O_2/UV	0,06	0,07	**11**	≤ 0,01
Tour traitée au ClO_2	0,14	0,22	**35**	0,07

D'après ces résultats, la TAR traitée par le couplage H_2O_2/UV conduit à un bilan sur les débits équilibré à 11% près. Cette différence peut être attribuée à un petit débit d'entraînement vésiculaire et de fuite mais également aux incertitudes liées aux relevés des compteurs volumétriques (mesures non continues).

Dans le cas de la TAR traitée au dioxyde de chlore, l'écart est bien plus important : 35%, ce qui ne permet plus de négliger les débits d'entraînement vésiculaire et de fuites. Une perte en eau estimée à 0,07 $m^3.h^{-1}$, par le calcul, a pu être mise en évidence dans le circuit. Il s'agit d'un débit de fuites lié au dysfonctionnement du robinet à flotteur de la tour, constaté uniquement à la fin de la campagne d'essais. Il s'est ainsi produit, tout au long des essais, un débordement de l'eau de la TAR par le trop-plein conduisant à une

perte d'eau continue du système. Pour cette tour aéroréfrigérante, il est donc nécessaire de travailler avec le débit de purge totale afin de prendre en considération ce débit de fuites.

Ainsi, la présence d'un débit de fuites lié à un dysfonctionnement sur la TAR traitée au dioxyde de chlore entraîne un fonctionnement non optimisé de cette tour avec des débits et un renouvellement d'eau plus important, ainsi que des facteurs de concentration plus faibles comparativement à la TAR traitée par le couplage H_2O_2/UV.

I.2.2. Puissances échangées

Les puissances échangées sont déterminées grâce à deux équations provenant du Guide des bonnes pratiques – *Legionella* et tours aéroréfrigérantes du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (2001).

La puissance définit la quantité de chaleur échangée par seconde et s'exprime par le produit [76] :

$$P = Q \times C_{p,eau} \times \Delta T \qquad [76]$$

où P puissance de la tour (kW)
Q débit de recirculation de la TAR ($kg.s^{-1}$)
$C_{p,eau}$ capacité thermique de l'eau à pression constante soit 4,186 $kJ.kg^{-1}.K^{-1}$
ΔT différence de température entre l'eau chaude et l'eau refroidie (K)

Ne connaissant pas la différence de température entre l'eau chaude et l'eau refroidie, une autre équation est alors nécessaire. La puissance peut également être déterminée par l'expression du débit d'eau évaporée à la tour pour refroidir l'eau du circuit [77] :

$$E = Q' \times 0{,}004186 \times \Delta T \times C_S \qquad [77]$$

où E débit d'évaporation de la TAR ($L.s^{-1}$)
Q' débit de recirculation de la TAR ($L.s^{-1}$)
C_S provient de la norme NF E 38-423 (2005) et est fonction de l'humidité et de la température de l'air extérieur. Il peut également se déterminer grâce à l'équation suivante :
$C_S = 0{,}2688 + 0{,}00348 \times T_{air,extérieur}(°C)$ [78]

En combinant [76] et [77], il est alors possible de déterminer les puissances échangées uniquement à partir du débit d'eau évaporée et de la température de l'air extérieur [79] :

$$P = \frac{1}{\rho_{eau}} \times C_{p,eau} \times \frac{E}{0{,}004186 \times C_S\,[f^{\circ}\,T_{air,extérieur}]} \qquad [79]$$

où ρ_{eau} masse volumique de l'eau ($kg.L^{-1}$)

Pour le calcul de la puissance échangée, le débit d'évaporation a été déterminé à partir de l'équation bilan [80] sur les débits :

$$A = E + P_T \qquad [80]$$

Les températures moyennes de l'air extérieur ont, quant à elles, été calculées à partir de relevés horaires effectués par la ville de Grenoble sur la plage de fonctionnement des groupes froids (6 à 22 heures), qui correspond aux périodes de refroidissement effectif.

Pour la durée des essais, le débit d'évaporation et la température moyenne de l'air extérieur sont :

- E = 0,06 $m^3.h^{-1}$ et T = 20°C pour la TAR traitée par le couplage H_2O_2/UV,
- E = 0,08 $m^3.h^{-1}$ et T = 20°C pour la TAR traitée au dioxyde de chlore.

Les résultats obtenus pour les puissances échangées sont reportés dans le Tableau 20. D'une manière générale, le bilan sur les puissances échangées montre que, sur la durée des essais réalisés, la quantité de chaleur échangée sur la TAR traitée au dioxyde de chlore est légèrement supérieure à celle de la TAR traitée par H_2O_2/UV (7%). Sur cette campagne d'essais (avril à octobre 2011), trois périodes distinctes d'une durée de 2 mois chacune, dénommées essais 1 à 3, ont été réalisées. La puissance échangée, déterminée pour chacune d'elle, permet de mieux visualiser les sollicitations des groupes froids lors de cette campagne d'essais (Figure 49).

Tableau 20 : Puissances globales échangées sur chaque TAR selon l'essai

PUISSANCES GLOBALES (kW)	**Essai 1**	**Essai 2**	**Essai 3**	**Totalité**
Tour traitée par H_2O_2/UV	2 290	2 048	1 480	5 818
Tour traitée par ClO_2	1 901	3 458	885	6 244
Ecart par rapport à H_2O_2/UV (%)	**- 17**	**+ 68**	**- 40**	**+ 7**

L'évolution temporelle des puissances échangées (Figure 49) sur les deux tours fait apparaître une discontinuité dans les tracés correspondant aux week-ends pour lesquels les groupes froids sont à l'arrêt. Cependant, les puissances échangées calculées montrent une utilisation préférentielle d'une tour vis-à-vis de l'autre selon certaines périodes. Celles-ci sont liées aux basculements des réglages d'utilisation d'un groupe froid à l'autre. En effet, l'utilisation simultanée des deux groupes froids n'est pas toujours nécessaire, comme le montre la période de fin juillet. La demande des utilisateurs et les températures extérieures conditionnent l'utilisation des tours aéroréfrigérantes. Le basculement sur un des deux groupes froids permet ainsi d'obtenir une utilisation globale assez proche pour les deux tours aéroréfrigérantes.

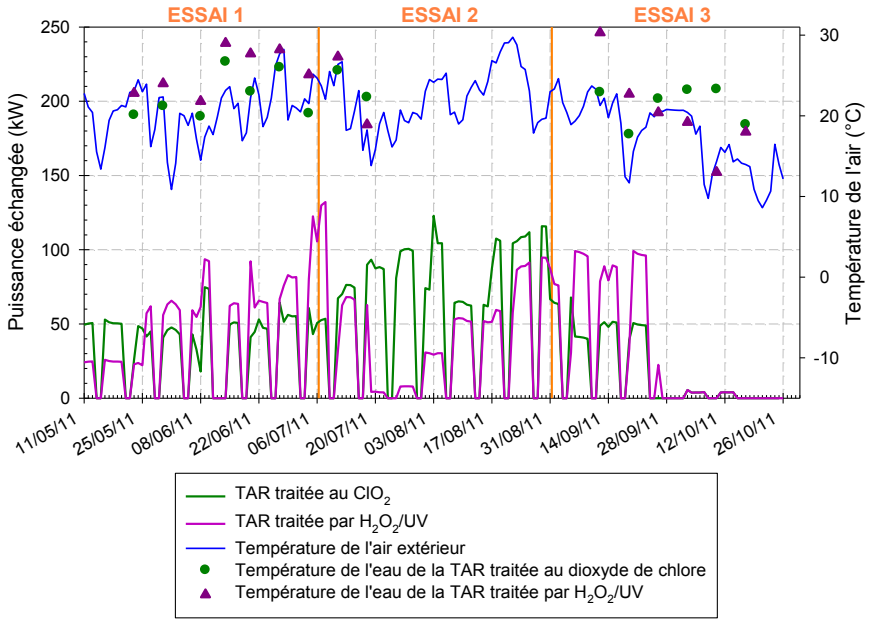


Figure 49 : Evolution temporelle des puissances échangées des deux TAR

II. Conditions d'application des traitements et suivi des performances de traitement

II.1. Traitement H_2O_2/UV

II.1.1. Mise en œuvre

Le peroxyde d'hydrogène est injecté directement dans la bâche de la TAR via une pompe péristaltique Gilson Minipuls 3, à l'aide d'un tuyau en PVC souple de diamètre intérieur 0,64 mm. Ces apports se font à partir d'une solution de peroxyde d'hydrogène à 50%, fournie par la société ARKEMA, diluée selon les besoins.

Deux lampes UV de puissance identique, fournies par l'entreprise BIO-UV, sont installées directement dans le bassin de rétention de la TAR, réparties sur sa longueur (Figure 50). Elles sont lestées via un socle en acier inoxydable, afin de les maintenir lors de la mise en route de la ventilation. Les lampes installées sont des lampes UV-C à basse pression de mercure identiques à celles utilisées lors des essais en laboratoire, de puissance électrique de 33 ou de 55 W.

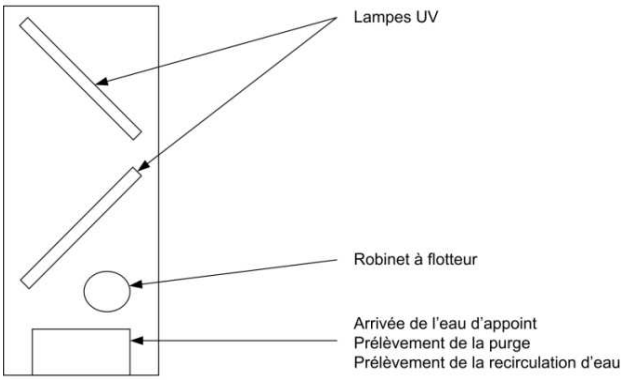


Figure 50 : Positionnement des lampes UV dans la bâche de la TAR

II.1.2. Doses UV

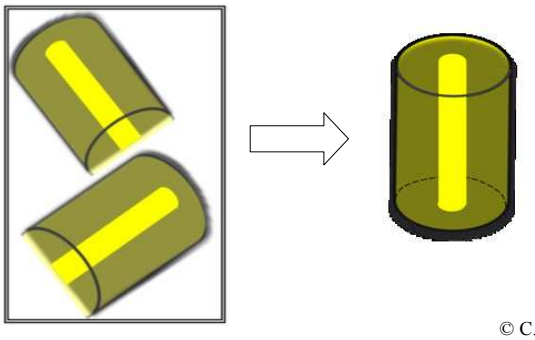
L'introduction des lampes UV directement dans le bassin de rétention de la tour rend la détermination de la dose UV plus difficile, nécessitant des approximations. Celle-ci a été estimée à partir de la relation [81] utilisée dans le cas d'un réacteur annulaire :

$$D_{estimée} = \frac{P}{S_{équivalente}} \times \frac{V_{réacteur\ UV}}{V_{eau\ à\ traiter}} \times t_{réaction} \times T^{d_{équivalent}} \qquad [81]$$

avec

$D_{estimée}$	dose UV estimée (mJ.cm^{-2})
P	puissance UV émise par les lampes (mW)
$S_{équivalente}$	surface interne de la chambre d'irradiation (cm^2)
$V_{eau\ à\ traiter}$	volume d'eau à traiter (L)
$V_{réacteur\ UV}$	volume du réacteur UV (L)
$t_{réaction}$	durée de l'expérimentation (s)
T	coefficient de transmission UV sur 10 mm (-)
d	épaisseur de lame d'eau (cm)

Les lampes étant placées sur la base du bassin de rétention, le rayonnement UV émis est limité à sa partie supérieure. L'hypothèse émise est une utilisation partielle de chaque lampe, réduite à la moitié de sa surface émissive environ. De plus, bien que dans ce bassin la longueur du trajet optique ne soit pas directement mesurable, il est choisi afin d'estimer la dose reçue par l'eau traitée, de considérer un rayonnement moyen fictif autour de chacune des lampes. Ainsi, la zone d'irradiation des deux lampes est représentée par deux volumes identiques, formant par reconstitution un réacteur annulaire fictif avec une seule lampe centrée. Cette configuration spatiale est représentée sur la Figure 51 et permet ainsi d'appliquer l'équation [81] pour estimer la dose UV.



© C.P.

Figure 51 : Schéma illustratif des hypothèses pour la détermination de la dose UV au sein de la tour aéroréfrigérante

Dans cette relation [81], les paramètres pris en considération sont les suivants :

- ***La puissance UV émise :*** Le faible écart (8%) obtenu entre la valeur constructeur et la mesure expérimentale par actinométrie (Chapitre 2) permet de considérer la puissance incidente à 254 nm donnée par le constructeur, soit 22 $W_{UV\text{-}C}$ pour une lampe de 55 $W_{électrique}$ et 8,5 $W_{UV\text{-}C}$ pour une lampe de 33 $W_{électrique}$.
- ***L'épaisseur de lame d'eau :*** Le trajet optique moyen a été déterminé par actinométrie chimique en utilisant le peroxyde d'hydrogène selon la procédure

décrite au Chapitre 2. Les cinétiques de photolyse ont été réalisées directement dans la tour aéroréfrigérante (recirculation en fonctionnement, groupe froid et ventilation à l'arrêt) à une concentration initiale de 20 mg.L^{-1}. Les résultats reportés dans le Tableau 21 ont permis de calculer le trajet optique moyen fictif d'après les équations [82] et [83] :

$$ln\left(\frac{[H_2O_2]_t}{[H_2O_2]_0}\right) = -k_{photolyse} \times t \qquad [82]$$

$$\text{avec } k_{photolyse} = k_{H_2O_2/UV} - k_{H_2O_2} = -\phi \times I_0 \times 2.303 \times \varepsilon \times l \qquad [83]$$

Il en résulte alors, quelle que soit la puissance UV appliquée, un trajet optique moyen de 13 cm.

Tableau 21 : Détermination du trajet optique moyen selon les lampes UV utilisées

	$k_{photolyse}$ (h^{-1})	$d_{équivalent}$ (cm)
Lampe 22 W$_{UV-C}$	0,08	12,7
Lampe 8,5 W$_{UV-C}$	0,03	12,9

- ***La surface interne de la chambre d'irradiation :*** Elle est définie comme un réacteur annulaire autour de chaque lampe dont le rayon est équivalent au trajet optique moyen.
- ***Le temps de réaction :*** Il est équivalent au temps de séjour moyen de l'eau dans la tour aéroréfrigérante, qui peut être considérée comme un réacteur parfaitement agité. Le temps de séjour moyen est donc équivalent au temps de passage dans le système, qui se définit comme le rapport entre le volume d'eau présent dans la TAR et le débit de purge. Le temps de séjour moyen est alors de 7,6 heures.
- ***La transmittance de l'eau :*** Elle est d'environ 96% (sur 10 mm).
- ***Le volume d'eau à traiter :*** Il est de 510 litres.
- ***Le volume du réacteur UV :*** Il s'agit du volume du réacteur annulaire « fictif ».

Dans de telles conditions, les doses UV appliquées estimées sont alors comprises :

- entre 6 et 7 J.cm^{-2} lors de l'utilisation des deux lampes à 55 W$_{électrique}$,
- entre 2 et 3 J.cm^{-2} dans le cas des deux lampes UV à 33 W$_{électrique}$.

Etant données les hypothèses de calcul, ces doses UV ne sont qu'approximatives mais permettent de les comparer à celles appliquées pour les essais réalisés en laboratoire. Les résultats reportés dans le Tableau 22 montrent que les doses reçues par l'eau pour un même temps d'irradiation (t = 7,6 heures) sont très proches quel que soit le système utilisé. Ainsi l'introduction des lampes directement dans le bassin de rétention permet de gagner en dose UV puisque seules deux lampes de 33 W$_{électrique}$ (correspondant à une seule lampe en matière de rayonnement UV) sont utilisées pour traiter 410 litres d'eau (cas d'une tour en fonctionnement) alors que pour le pilote de laboratoire, il a été nécessaire d'utiliser une lampe de 33 W$_{électrique}$ pour 100 litres d'eau. Cette présence des lampes UV directement dans le bassin de rétention permet aussi de simplifier l'installation du système d'irradiation (pas de boucle de traitement nécessitant une

pompe et un réacteur photochimique) et de limiter les problèmes d'hydraulique. Cependant pour augmenter la dose UV, il sera nécessaire de moduler avec la puissance des lampes étant donné que le temps de séjour dans la tour est défini par le facteur de concentration R_C.

Tableau 22 : Doses UV obtenues lors de l'étude en laboratoire et lors de l'étude sur une tour aéroréfrigérante

Essais	Lampes UV ($W_{électrique}$)	H_2O_2 ($mg.L^{-1}$)	Temps de réaction ou séjour (h)	Dose UV-C ($J.cm^{-2}$)
Laboratoire **Réacteur annulaire**	1 x 33	30	7,6	3,2
TAR **Lampes plongeantes**	2 x 55	10,0 (essai 1) 2,7 (essai 2)	7,6	6 – 7
	2 x 33	4,3 (essai 3)	7,6	2 – 3

La transposition des résultats de laboratoire sur une tour aéroréfrigérante, quant aux conditions d'application des UV, présente donc des similarités. L'utilisation des deux lampes UV de 33 $W_{électrique}$ se rapproche d'ailleurs fortement des doses minimales appliquées en laboratoire pour lesquelles un abattement est observable.

II.1.3. Taux de traitement appliqués

Les résultats de l'étude menée en laboratoire ont permis de définir pour l'eau étudiée (COT = 5,3 ± 0,3 $mg.L^{-1}$, transmittance à 254 nm (sur 10 mm) T = 35%) un couple dose UV / concentration en peroxyde d'hydrogène – 14 $J.cm^{-2}$ / 30 $mg.L^{-1}$ – pour lequel les efficacités de désinfection sont conséquentes et ne présentent pas d'adaptation des bactéries. Etant donné la différence de qualité d'eau (COT < 1 $mg.L^{-1}$, transmittance à 254 nm (sur 10 mm) T = 96%), la stratégie optée sur la tour aéroréfrigérante a été d'appliquer initialement une dose UV et une concentration en peroxyde d'hydrogène proches mais légèrement inférieures à celles utilisées en laboratoire.

Au cours de la campagne d'essais, plusieurs taux de traitements ont été appliqués aussi bien au niveau de la dose UV que du résiduel en peroxyde d'hydrogène afin de déterminer le meilleur compromis entre ces deux paramètres (Tableau 23).

Lors du premier essai, la concentration résiduelle moyenne de peroxyde d'hydrogène a été fixée à 10 $mg.L^{-1}$ pour une dose UV de 6 à 7 $J.cm^{-2}$. Ce résiduel a été abaissé lors de l'essai 2 tout en conservant les mêmes lampes UV. L'essai 3 connaît une réduction de la dose UV appliquée avec la mise en place de 2 lampes UV à basse pression de mercure de 33 $W_{électrique}$. Celle-ci s'accompagne aussi d'une augmentation de la concentration moyenne en peroxyde d'hydrogène afin de conserver une photolyse suffisante dans le système.

Tableau 23 : Conditions opératoires sur la tour aéroréfrigérante traitée par le couplage H_2O_2/UV

H_2O_2/UV	UV	Dose moyenne UV ($J.cm^{-2}$)	Résiduel moyen H_2O_2 dans la TAR ($mg.L^{-1}$)	Flux moyen H_2O_2 injecté ($g.h^{-1}$)
Essai 1 (11 mai – 06 juillet 2011)	2 lampes de 55 $W_{électrique}$ (22 W_{UV-C})	6 – 7	10,0	1,9
Essai 2 (6 juillet – 31 août 2011)	2 lampes de 55 $W_{électrique}$ (22 W_{UV-C})	6 – 7	2,7	3,2
Essai 3 (31 août – 26 octobre 2011)	2 lampes de 33 $W_{électrique}$ (8,5 W_{UV-C})	2 – 3	4,3	4,1

La Figure 52a montre de nombreuses fluctuations de la concentration résiduelle moyenne en peroxyde d'hydrogène au cours de ces différents essais. Elles sont liées à l'absence d'asservissement de l'injection de l'oxydant sur une consigne de concentration. Ces écarts sont donc le reflet d'ajouts manuels effectués afin de maintenir la concentration en peroxyde d'hydrogène désirée dans le système.

(a) Concentration résiduelle (b) Flux injecté

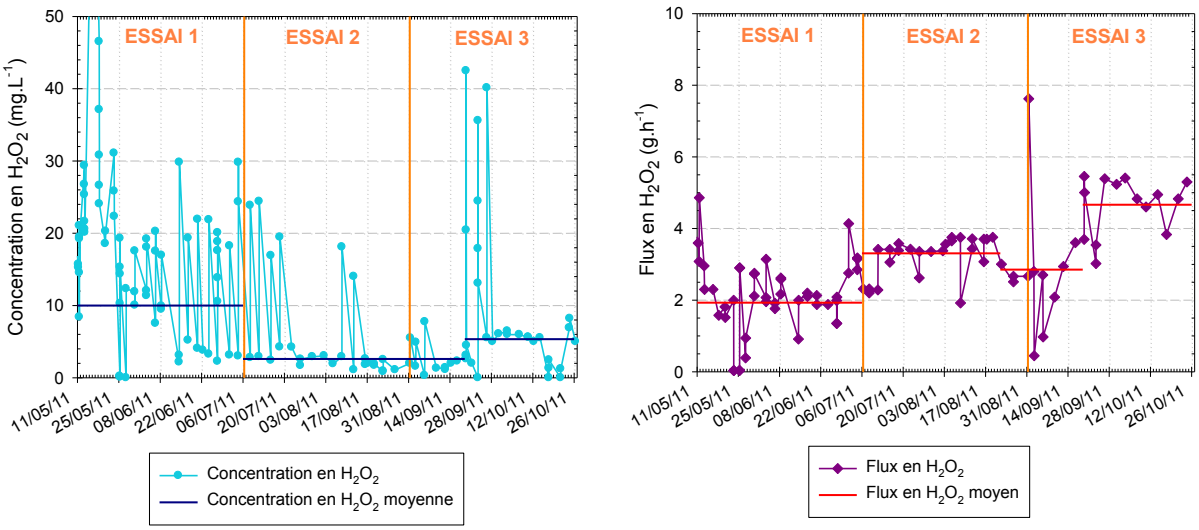


Figure 52 : Evolution temporelle (a) de la concentration résiduelle et (b) du flux injecté de peroxyde d'hydrogène

Les concentrations relevées dans le système sont également liées aux flux de peroxyde d'hydrogène qu'il a été injecté afin d'obtenir ces valeurs. Ces derniers augmentent tout au long des essais avec une diminution faible mais notable entre les essais 2 et 3 (Figure 52b). Les baisses ponctuelles des valeurs de flux observées sont principalement dues à des problèmes d'injection (perçage du tuyau de la pompe péristaltique ou coupure

électrique sans réamorçage de la pompe). Néanmoins, ces flux restent relativement stables pour chaque essai avec des valeurs moyennes rapportées dans le Tableau 23.

II.2. Traitement au dioxyde de chlore

II.2.1. Mise en œuvre

Le dioxyde de chlore est généré *in situ* à partir d'une solution de chlorite de sodium à 25% et d'acide chlorhydrique à 34% par un générateur SECUROX® (Thetis-Environnement, 2011) fourni par la société THETIS-ENVIRONNEMENT, selon la réaction globale suivante [84] :

$$5NaClO_2 + 4HCl \rightarrow 4ClO_2 + 5NaCl + 2H_2O \qquad [84]$$

L'acide chlorhydrique, introduit en large excès (400% par rapport à la stœchiométrie), permet d'atteindre un rendement de conversion des ions chlorite proche de 100%.

Cet oxydant est injecté en continu dans la tour à l'aide d'une pompe doseuse via un piquage sur la boucle de recirculation d'eau de la TAR. Sur l'ensemble de la campagne d'essais, la concentration résiduelle moyenne en dioxyde de chlore a été maintenue à une valeur cible de 0,1 mg.L^{-1} dans l'eau de la TAR. Cependant, les résiduels moyens mesurés pour chaque essai sont légèrement inférieurs à cette valeur de consigne :

- essai 1 (11 mai – 06 juillet 2011) : 0,08 ± 0,04 mg.L^{-1},
- essai 2 (6 juillet – 31 août 2011) : 0,07 ± 0,03 mg.L^{-1},
- essai 3 (31 août – 26 octobre 2011) : 0,08 ± 0,01 mg.L^{-1}.

Cette différence s'explique par l'absence d'asservissement de cette concentration résiduelle sur la quantité de dioxyde de chlore injecté.

Afin de maintenir un tel résiduel, le flux en dioxyde de chlore injecté a dû être augmenté au fur et à mesure de l'avancée des essais (Figure 53). En effet, les débits d'eau d'appoint et de purge augmentant, le phénomène de dilution au sein de la TAR est plus important et conduit à un abaissement de la concentration. La présence d'un débit de fuites sur cette tour conduit également à une perte directe du dioxyde de chlore.

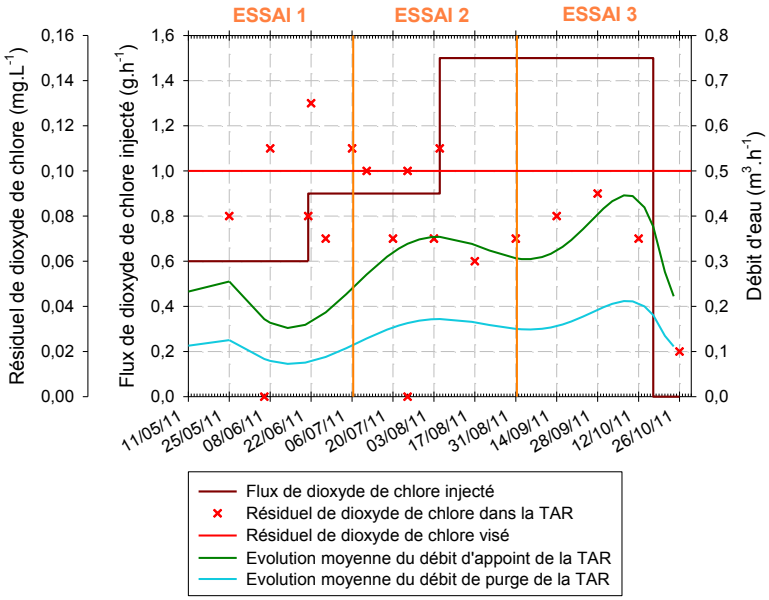


Figure 53 : Flux injecté et résiduel de dioxyde de chlore dans la TAR

L'injection de la solution de dioxyde de chlore et surtout les apports d'excès d'acide chlorhydrique peuvent modifier la conductivité et le pH de l'eau traitée.

Concernant la conductivité de l'eau traitée, la comparaison du facteur de concentration calculé à partir de la conductivité avec ceux calculés à partir d'ions spectateurs (non réactifs et non introduits par le traitement) montrent des valeurs similaires (Tableau 24). L'injection de dioxyde de chlore dans le système ne modifie donc que peu la conductivité du milieu. La comparaison de ces différentes méthodes de calcul sur les facteurs de concentration sur la TAR traitée par H_2O_2/UV, où aucun sel n'est apporté par le traitement, permettent de confirmer cette conclusion.

Tableau 24 : Impact de l'injection de dioxyde de chlore sur différents paramètres

	CONDUCTIVITE ($\mu S.cm^{-1}$)	FACTEUR DE CONCENTRATION (-)			PH MOYEN (-)
		Conductivité	Nitrate	Sulfate	
Appoint	390	-	-	-	7,4
ClO_2	530	1,36	1,30 (4%)	1,45 (-7%)	8,3
H_2O_2/UV	700	1,79	1,88 (-5%)	1,94 (-8%)	8,6

De même, l'ajout d'acide chlorhydrique via l'injection de dioxyde de chlore peut conduire à une acidification de l'eau de la tour. En comparaison avec l'eau d'appoint, le pH relevé dans les TAR est plus basique (Tableau 24). L'eau d'appoint adoucie présente un TAC de 15°F. Ainsi avec le phénomène de concentration des sels propre aux tours aéroréfrigérantes, les ions bicarbonate se retrouvent en quantités plus élevées dans le système, déplaçant l'équilibre calcocarbonique vers des pH plus basiques. Les deux tours aéroréfrigérantes présentent des pH similaires, un peu moins basique dans le cas de la TAR traitée au dioxyde de chlore. La présence d'un facteur de concentration moins important sur cette tour et donc une concentration moindre que celle rencontrée sur la TAR traitée par le couplage H_2O_2/UV, peut expliquer cette faible différence.

Malgré le mode de synthèse du dioxyde de chlore, son injection n'a pas d'incidence sur la conductivité et donc les facteurs de concentration, ni le pH de la tour aéroréfrigérante.

II.2.2. Bilan matière

Afin d'obtenir un résiduel à 0,1 $mg.L^{-1}$ de dioxyde de chlore dans la tour, il est nécessaire d'injecter un minimum de 0,6 à 1,5 $g.h^{-1}$ de ClO_2 dans l'eau de celle-ci (Figure 53). Un bilan matière est donc réalisé sur cet oxydant injecté de manière à connaître son devenir. Pour plus de simplicité, le bilan a été effectué sur les atomes de chlore car ils restent constants dans le système.

Les atomes de chlore entrant dans la TAR sont liés à l'eau d'appoint (apport d'ions chlorure) et à la génération du dioxyde de chlore (dioxyde de chlore, chlorure de sodium et l'excès d'acide chlorhydrique). Cependant, travaillant en atomes de chlore, il est plus aisé de considérer les quantités initiales de chlorite de sodium et d'acide chlorhydrique utilisées pour la génération du dioxyde de chlore. Le flux massique d'atomes de chlore entrant est alors de 4,5 $g.h^{-1}$ (Tableau 25).

Tableau 25 : Bilan massique en atomes de chlore sur la TAR traitée au dioxyde de chlore

Flux massique $g_{équivalent\ atomes\ de\ chlore}.h^{-1}$	**Appoint**	**Purge**
Chlorure	4,00	3,98
Chlorite	0,52	0,08
Chlorate	-	0,04
Dioxyde de chlore	0,58	0,01
BILAN	**4,52**	**4,11**

Les atomes de chlore sortant de la TAR sont liés aux ions chlorure injectés via la génération du dioxyde de chlore (HCl et NaCl) et à l'eau d'appoint, au résiduel de dioxyde de chlore présent dans l'eau de purge ainsi qu'au dioxyde de chlore consommé par les réactions chimiques. Le dioxyde de chlore est un oxydant hautement sélectif avec les composés organiques mais conduit à la formation de peu de sous-produits organiques chlorés. Il réagira principalement par un transfert de charge pour donner des ions chlorite, chlorure et parfois des ions chlorate, pris en considération dans ce bilan. Il s'avère néanmoins que les ions chlorure ne sont que pas ou peu formés à partir du dioxyde de chlore. En effet, principalement présents par la génération du dioxyde de chlore (large excès d'acide chlorhydrique et formation de chlorure de sodium) et dans l'eau d'appoint, le bilan matière réalisé sur cette espèce s'équilibre à 5% près (incertitudes liées à la génération du dioxyde de chlore). La quantification de toutes les espèces chlorées conduit alors à un flux massique d'atomes de chlore sortant de 4,1 $g.h^{-1}$. Dans ce calcul, la formation éventuelle de THM et/ou d'haloacides n'a pas été prise en considération car la qualité de l'eau utilisée (eau de consommation) et le faible résiduel de dioxyde de chlore appliqué conduirait à des teneurs relativement faibles de ces composés, modifiant peu le bilan matière.

Le bilan matière entre l'appoint et la purge n'est donc pas équilibré : le flux d'atomes de chlore entrant dans le système est supérieur au flux sortant. Pourtant, malgré un écart de 10% seulement, il existe une autre source d'atomes de chlore non quantifiée. En effet, le fait d'avoir un bilan équilibré sur les ions chlorure (non formés par l'introduction du dioxyde de chlore dans le système) et vu la grande différence entre le dioxyde de chlore injecté – 0,6 $g.h^{-1}$ en atomes de chlore – et le résiduel restant – 0,01 $g.h^{-1}$ en atomes de chlore – cet écart ne peut s'expliquer que par un stripping du dioxyde de chlore. Dans l'eau, le dioxyde de chlore reste effectivement sous sa forme gazeuse (Aieta et Berg, 1986). Il est très soluble mais aussi extrêmement volatil, pouvant être facilement éliminé des solutions aqueuses diluées avec un minimum d'aération (Environmental Protection Agency, 1999a). Le flux de stripping est d'environ 0,8 $g.h^{-1}$ de dioxyde de chlore (0,4 $g.h^{-1}$ en atomes de chlore), représentant 70% de l'injection de l'oxydant (flux moyen de 1,1 $g.h^{-1}$ de dioxyde de chlore). Ainsi très peu de dioxyde de chlore reste dans l'eau. Le point d'injection du traitement sur la boucle de recirculation n'est peut-être pas optimal. Le dioxyde de chlore se retrouve alors rapidement en haut de tour et est rejeté dans l'atmosphère.

II.3. Suivi analytique

Cette étude sur l'application des traitements H_2O_2/UV et ClO_2 en désinfection de l'eau des tours aéroréfrigérantes s'accompagne d'un suivi analytique conséquent, réalisé par les différents acteurs du projet. Certaines mesures sont réalisées *in situ*, d'autres en laboratoire. Les paramètres suivis peuvent être classés en différentes catégories (Tableau 26) :

- les conditions de fonctionnement des tours,
- la physico-chimie sur l'eau,
- la microbiologie de l'eau et des biofilms.

Tableau 26 : Suivi analytique au CG38

		Paramètres	Appoint	TAR	Fréquence d'analyses
Conditions des TAR		Relevés des compteurs volumétriques d'appoint et purge		X	variable
		Température de l'eau	X	X	15 jours
Paramètres chimiques de l'eau		Suivi des résiduels en oxydants		H_2O_2 ClO_2	2 fois par semaine 15 jours minimum
		pH, Conductivité	X	X	15 jours
		TH, TAC	X	X	mensuel
		COT, CT	X	X	15 jours
		Chlorure, Nitrate, Sulfate	X	X	15 jours
		Zinc dissous	X	X	15 jours
		Chlorite, Chlorate		X	15 jours – TAR ClO_2
Paramètres microbiologiques	**de l'eau**	Bactéries cultivables	X	X	mensuel / Appoint : annuel
		Bactéries totales	X	X	mensuel
		Legionella cultivables	X	X	mensuel / Appoint : annuel
		Legionella pneumophila cultivables	X	X	mensuel / Appoint : annuel
	des biofilms	ATP		X	15 jours
		Bactéries cultivables		X	15 jours
		Bactéries totales		X	15 jours
		Legionella cultivables		X	15 jours
		Legionella pneumophila cultivables		X	15 jours

Certaines analyses réalisées sur l'eau sont réglementaires (*Legionella* et *Legionella pneumophila* – techniques par culture) auxquelles ont été ajoutées des analyses complémentaires : dénombrement des bactéries totales (bactéries cultivables et bactéries totales au microscope à épifluorescence après marquage par DAPI) et de *Legionella* et *Legionella pneumophila* par PCR. Sur ce site d'étude, certains paramètres (bactéries cultivables, *Legionella* et *Legionella pneumophila*) sont quantifiés mensuellement sur l'eau circulante et annuellement sur l'eau d'appoint. Ainsi l'ensemble de ces données sont également disponibles pour les années antérieures (2009 et 2010).

Les biofilms sont quant à eux analysés après leur développement sur des lames de verre. Ces dernières sont positionnées dans des tubes, placés sur quatre supports introduits dans le bassin de rétention de chacune des TAR au début de chaque période d'essai. Pour la TAR traitée par H_2O_2/UV, deux supports sont fixés sur chaque lampe UV. Pour la TAR traitée au dioxyde de chlore, un tube identique à la gaine en quartz des lampes UV a été réalisé et permet de fixer ces supports (Figure 54). Sur chacun d'eux se trouvent trois tubes en polypropylène, contenant chacun une lame de verre, percés à chaque extrémité afin de laisser le passage de l'eau à l'intérieur. Tous les 15 jours, un support (soit un triplicat) est récupéré et analysé. L'ensemble des triplicats est ainsi récupéré après 8 semaines de traitement (durée d'une période d'essai). De tels supports permettent donc de suivre la formation et le développement des biofilms en présence des traitements appliqués.



Figure 54 : Supports des lames de verre placés dans la TAR traitée au ClO_2 et récupération d'une lame de verre pour analyse

III. Résultats sur les performances de désinfection des traitements H_2O_2/UV et ClO_2

Les performances des traitements H_2O_2/UV et ClO_2 ont été étudiées pour différents taux de traitement résumés dans le Tableau 27.

L'efficacité de ces deux traitements sera comparée à celles obtenues en 2009 et 2010, avec les traitements habituellement utilisés sur ces deux tours aéroréfrigérantes : isothiazolone et 2,2-dibromo-3-nitrilopropionamide (DBNPA) appliqués, de manière alternative, en traitement choc au sein du système : 200 $mg.L^{-1}$ d'isothiazolone en début de semaine et 300 $mg.L^{-1}$ de DBNPA en milieu de semaine.

Tableau 27 : Synthèse des taux de traitement appliqués sur les années 2009 à 2011

	Traitement	Mode d'injection	Dose / Concentration moyennes Flux injecté		
			Essai 1	**Essai 2**	**Essai 3**
2009	Isothiazolone	choc 2 fois/semaine	300 mg.L^{-1} N.C.		
2010	Isothiazolone(1) et DBNPA(2)	choc (1) 1 fois/sem. (2) 1 fois/sem.	(1) : 200 mg.L^{-1} (2) : 300 mg.L^{-1} N.C.		
2011	H_2O_2/UV	continu	10,0 $mg_{H_2O_2}.L^{-1}$ 6 – 7 J.cm^{-2} 1,9 $g_{H_2O_2}.h^{-1}$	2,7 $mg_{H_2O_2}.L^{-1}$ 6 – 7 J.cm^{-2} 3,2 $g_{H_2O_2}.h^{-1}$	4,3 $mg_{H_2O_2}.L^{-1}$ 2 – 3 J.cm^{-2} 4,1 $g_{H_2O_2}.h^{-1}$
	ClO_2	continu	0,08 mg.L^{-1} 0,7 g.h^{-1}	0,07 mg.L^{-1} 1,2 g.h^{-1}	0,08 mg.L^{-1} 1,5 g.h^{-1}

N.C. : Non connu

III.1. Efficacité de désinfection de l'eau

Dans le cas d'une tour aéroréfrigérante – système semi-ouvert – une désinfection efficace se traduit par le maintien de faibles teneurs microbiologiques afin de prévenir une contamination du système. Il s'agit donc d'une action préventive permettant d'inhiber le développement et la croissance des microorganismes.

Les résultats obtenus sur la qualité bactériologique de l'eau à l'issue des différents traitements (H_2O_2/UV, ClO_2 et isothiazolone / DBNPA) sont reportés sur la Figure 55 pour l'analyse des bactéries cultivables à 22°C et 36°C, et sur la Figure 56 pour les bactéries totales (traitements H_2O_2/UV et ClO_2 uniquement).

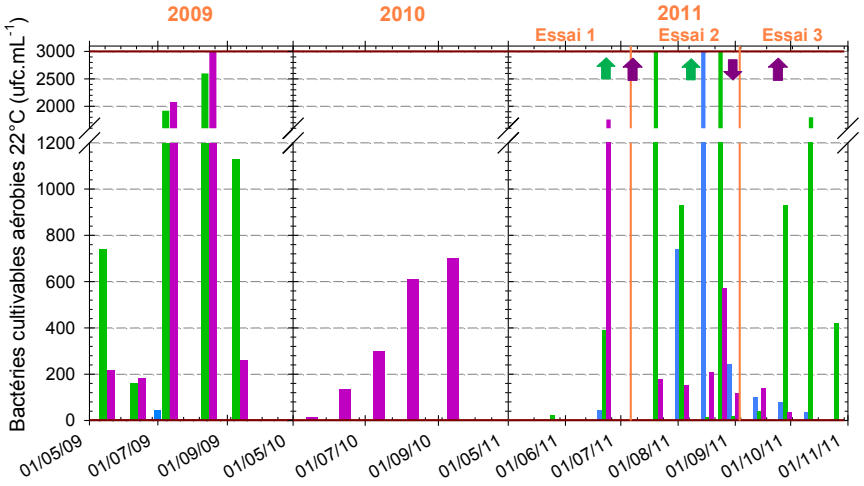
III.1.1. Qualité bactériologique de l'eau d'appoint

Sur la campagne 2011, l'eau d'appoint présente de manière répétée des bactéries cultivables (Figure 55) avec des teneurs comprises entre 4 et 740 ufc.mL^{-1} pour les bactéries cultivables aérobies à 22°C et entre 3 et 232 ufc.mL^{-1} pour les bactéries cultivables aérobies à 36°C, atteignant même le seuil de quantification maximal de 3 000 ufc.mL^{-1}. De telles valeurs peuvent être considérées comme importantes puisque cette eau d'appoint provient du réseau d'eau de consommation de la ville de Grenoble où les teneurs en bactéries cultivables rencontrées sont inférieures ou égales à 1 ufc.mL^{-1} (données obtenues auprès de la Régie des Eaux de Grenoble). Des bactéries totales y sont également retrouvées à la hauteur de $(5 \pm 2).10^4$ bactéries.mL^{-1} environ (Figure 56). La présence de ces bactéries dans l'eau d'appoint n'a pas été mise en évidence lors des campagnes 2009 et 2010 à cause d'analyses réalisées plus ponctuellement (une fois par an selon la réglementation).

La contamination bactérienne de l'eau d'appoint semble provenir soit du réseau entre l'adoucisseur et l'entrée de la tour, soit de l'adoucisseur qui est une niche à prolifération bactérienne. En effet, deux résines échangeuses d'ions sont utilisées alternativement. Ainsi, pendant l'utilisation d'une résine, l'autre est régénérée et reste en eau permettant un développement bactérien. Lors du changement de résine, cette eau stagnante et contaminée est alors envoyée dans le réseau et rejoint les deux tours aéroréfrigérantes.

L'eau d'appoint réensemence donc régulièrement le système, apportant parfois plus de bactéries qu'il n'en est présent dans le système et jouant un rôle défavorable face aux traitements appliqués sur les tours aéroréfrigérantes. La désinfection des résines n'étant réalisée qu'une fois par an, il conviendrait d'augmenter cette fréquence ou d'augmenter les rétrolavages, ce qui limiterait la contamination des tours aéroréfrigérantes par l'eau d'appoint, tout comme une désinfection du réseau amenant l'eau aux tours.

(a) Bactéries cultivables à 22°C



(b) Bactéries cultivables à 36°C

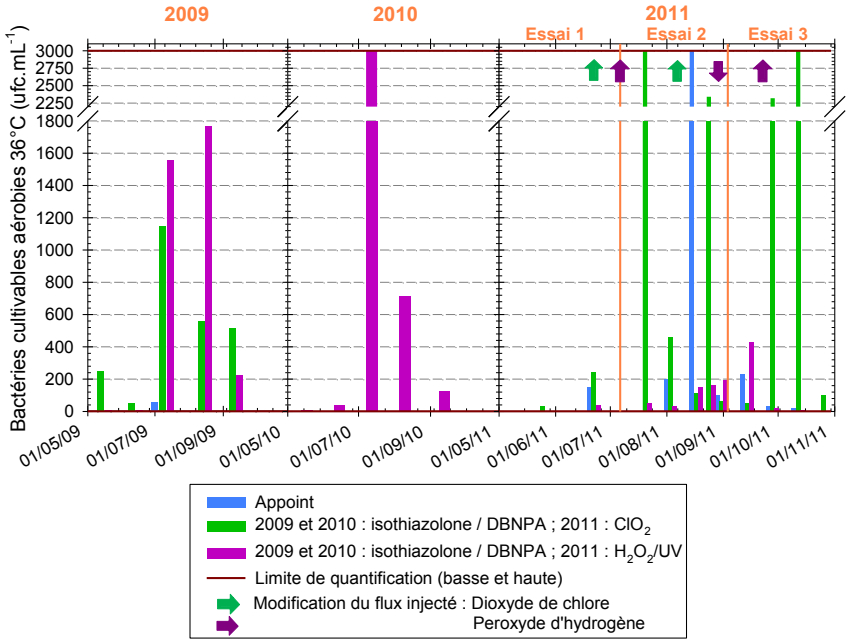


Figure 55 : Comparaison des teneurs en bactéries cultivables avec les traitements utilisés sur les années 2009 à 2011

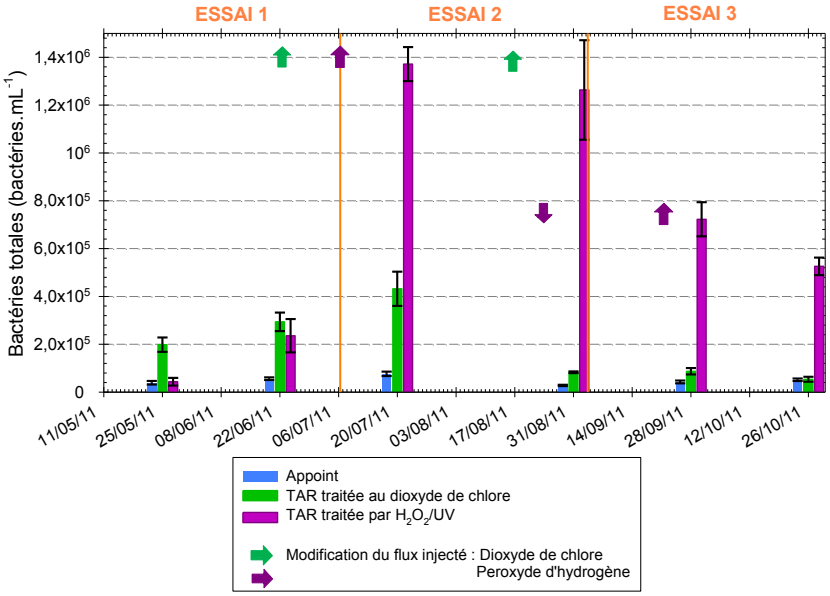


Figure 56 : Evolution temporelle des bactéries totales dans l'eau des TAR en 2011

III.1.2. Traitement par H_2O_2/UV

Le traitement de l'eau de la tour aéroréfrigérante par le couplage H_2O_2/UV présente de très bonnes performances sur les teneurs en bactéries cultivables comparativement aux résultats des années précédentes et même à l'eau d'appoint (Figure 55). Les teneurs varient entre 1 et 570 ufc.mL^{-1} à 22°C et entre 1 et 430 ufc.mL^{-1} à 36°C. Il apparaît une teneur ponctuelle de 1 760 ufc.mL^{-1} pour les bactéries cultivables à 22°C (22/06/2011) qui semble être maîtrisée grâce à une augmentation du flux de peroxyde d'hydrogène injecté. Les modifications de flux lors du passage de l'essai 2 à 3, ne semblent avoir aucune influence sur ce paramètre.

La méthode de dénombrement sur gélose est une technique sélective qui ne permet pas la détection de l'ensemble des bactéries (bactéries VBNC, autotrophes, anaérobies…), elle a ainsi été complétée par l'analyse des bactéries totales. Les résultats obtenus pour ce paramètre (non mesurées sur 2009 et 2010 car analyse non réglementaire) montrent des niveaux bien différents (Figure 56). Sur les deux premiers mois, le taux de traitement – dose UV de 6 à 7 J.cm^{-2} et résiduel moyen en peroxyde d'hydrogène de 10 mg.L^{-1} (essai 1) – permet un maintien de la désinfection dans le système avec des teneurs en bactéries totales comparables à celles obtenues sur l'eau d'appoint ou traitée par le dioxyde de chlore. Cependant, la diminution de la concentration en peroxyde d'hydrogène à une valeur moyenne de 2,7 mg.L^{-1} lors de l'essai 2, a conduit à une prolifération des bactéries totales dans le système. Le taux a été multiplié par 6 en l'espace de 15 jours passant de 2,4.10^5 à 1,4.10^6 bactéries.mL^{-1}, alors que dans le même temps la teneur atteignait seulement 4,3.10^5 bactéries.mL^{-1} sur la tour traitée au dioxyde de chlore. La teneur en bactéries totales a pu être maitrisée lors de l'essai 3 avec un ajustement du résiduel en peroxyde d'hydrogène à une valeur moyenne de 4,3 mg.L^{-1} et une dose UV de 2 à 3 J.cm^{-2}. Cependant le nombre de bactéries totales reste plus élevé que celui observé pour la tour traitée au dioxyde de chlore.

Le paramètre des bactéries totales semble donc le plus pertinent quant au suivi de l'efficacité du traitement H_2O_2/UV, bien que cette méthode ne permette pas de différencier les bactéries vivantes de celles qui ont été lysées par le traitement. Cependant, la perte de cultivabilité des bactéries observée ne permet pas d'utiliser une telle analyse comme un bon indicateur d'efficacité de traitement. Il semblerait qu'il y ait une modification de la communauté bactérienne sous l'effet du stress oxydatif provoqué par le traitement, conduisant à une sélection d'espèces qui ont la capacité de présenter une réponse physiologique adaptée face à ce dernier. Ces espèces ne seraient ainsi pas quantifiées par le dénombrement sur boîtes de Petri.

Les résultats obtenus pour les différentes doses de H_2O_2 et de radiation UV (essais 1 à 3) montrent ainsi la nécessité d'appliquer une concentration de peroxyde d'hydrogène suffisante pour conserver l'efficacité du traitement. La forte teneur en germes totaux observée avec un résiduel moyen de 2,7 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène (essai 2) montre que les conditions d'application du couplage ne sont plus suffisantes au maintien de la désinfection du système précédemment observée avec un résiduel moyen de 10 $mg.L^{-1}$ et une dose UV commune de 6 à 7 $J.cm^{-2}$. Comparativement aux essais en laboratoire, le couple 6 à 7 $J.cm^{-2}$ et 10 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène montre une désinfection suffisante de la tour aéroréfrigérante. En effet, la dose UV de 10 $J.cm^{-2}$ et le résiduel de 10 $mg.L^{-1}$ en peroxyde d'hydrogène appliqués sur le pilote de laboratoire présentaient l'inconvénient d'une adaptation des bactéries. La meilleure qualité de l'eau de la TAR permet ainsi de diminuer le résiduel optimal déterminé lors des essais en laboratoire (30 $mg.L^{-1}$). En effet, dans le pilote de laboratoire, les teneurs en bactéries cultivables et totales étaient respectivement de l'ordre de 10^5 $ufc.mL^{-1}$ et 10^6 $bactéries.mL^{-1}$ alors que la TAR présente moins de 10^3 $ufc.mL^{-1}$ et environ 10^5 $bactéries.mL^{-1}$ (lors de l'essai 1). Le développement des microorganismes observé lors de l'application d'une concentration moyenne de 2,7 $mg.L^{-1}$ conduit très certainement à une photolyse moins importante du peroxyde d'hydrogène, limitant la formation de radicaux hydroxyles et donc l'efficacité du couplage.

Par contre, il semblerait que pour cette tour, un résiduel moyen en peroxyde d'hydrogène de 5 $mg.L^{-1}$ et une dose UV de 2 à 3 $J.cm^{-2}$ soient suffisants pour maintenir la qualité bactériologique de l'eau. Malgré une dose UV nettement plus faible, l'augmentation de la concentration est bénéfique à l'obtention d'une meilleure désinfection, comme le montre la diminution des bactéries totales dans le système. L'application d'une dose UV moins importante que celles déterminées au seuil d'efficacité de désinfection obtenues lors des essais en laboratoire, permet donc de maintenir une désinfection du système si le résiduel de peroxyde d'hydrogène adéquat est appliqué.

Les essais réalisés sur le pilote de laboratoire montrent également la modification de la matière organique par le couplage H_2O_2/UV amenant jusqu'à sa minéralisation. Les teneurs moyennes en COT, selon les essais, varient entre 1 et 3 $mg.L^{-1}$ (Figure 57). Bien qu'il s'agisse d'un paramètre global, le COT rencontré semble provenir principalement de l'ajout de l'inhibiteur de corrosion et d'entartrage utilisé pour le conditionnement de l'eau de la tour. Cependant, la présence d'un COT similaire entre les deux TAR lors des deux derniers essais – alors que le facteur de concentration est plus important sur la TAR recevant le traitement H_2O_2/UV (R_C = 1,8 contre 1,4 dans le cas du dioxyde de chlore) – peut laisser penser qu'une faible minéralisation se produit. Ainsi pour les doses de

traitement appliquées, la génération de radicaux hydroxyles par le couplage H_2O_2/UV ne semble pas suffisante pour détruire totalement la structure carbonée de l'additif.

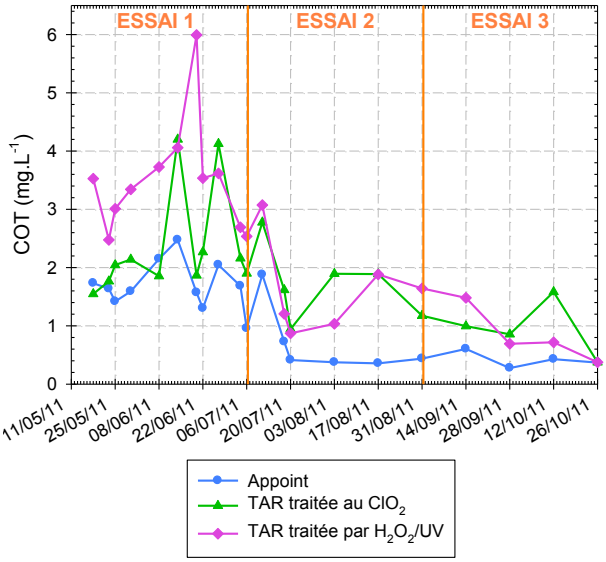


Figure 57 : Evolution temporelle du Carbone Organique Total

Ces essais montrent donc l'importance du choix de la dose UV associée au résiduel de peroxyde d'hydrogène à appliquer. La définition de ce couple doit permettre le maintien d'une photolyse continue et suffisante du peroxyde d'hydrogène afin d'obtenir une efficacité de désinfection du système. De plus, le traitement H_2O_2/UV modifie considérablement la population bactérienne avec une perte de cultivabilité importante des bactéries ne permettant pas de suivre une « dérive bactériologique » du système via ce paramètre.

III.1.3. Traitement au dioxyde de chlore

La tour aéroréfrigérante traitée au dioxyde de chlore présente des teneurs en bactéries cultivables élevées avec régulièrement plus de 900 ufc.mL^{-1} de bactéries aérobies cultivables à 22°C et plus de 1500 ufc.mL^{-1} à 36°C. La limite de quantification supérieure de 3 000 ufc.mL^{-1} est par ailleurs atteinte régulièrement au cours des trois essais (Figure 55). Cependant, ces valeurs restent à des niveaux comparables à ceux observés par les traitements appliqués les années précédentes. Les bactéries totales quand à elles, sont continuellement inférieures à 4,3.10^5 bactéries.mL^{-1}, valeur atteinte lors de l'essai 2 (Figure 56) indiquant que la prolifération de bactéries est limitée à l'issue de ce traitement. De plus, ce paramètre semble être mieux maîtrisé que dans le cas de la TAR traitée par H_2O_2/UV.

Les augmentations successives du flux de dioxyde de chlore, malgré un résiduel constant au sein de la tour, conduisent à une diminution des paramètres microbiologiques. La seconde modification de flux semble avoir davantage d'effets sur les bactéries cultivables, sans pour autant permettre le maintien de faibles teneurs sur du long terme. Contrairement au couplage H_2O_2/UV, il est plus pertinent de suivre le paramètre des bactéries cultivables lors de l'application du traitement au dioxyde de chlore.

Du point de vue de la qualité bactériologique de l'eau, l'application de 0,08 mg.L^{-1} de dioxyde de chlore conduit à une efficacité comparable à celle observée avec les

traitements chocs à l'isothiazolone et au DBNPA. Le maintien d'une désinfection dans le système nécessite donc la mise en œuvre d'une dose suffisante pour inactiver les microorganismes présents dans l'eau de la tour. Cette dose est déterminée par le produit de la concentration résiduelle en désinfectant C et du temps de contact t entre le désinfectant et les microorganismes (produit Ct). Pour les conditions de fonctionnement de la tour (temps de séjour moyen de l'eau de 3,5 heures), la dose de dioxyde de chlore est de 17 mg.min.L^{-1}. Une telle dose est quelque peu supérieure à celle rencontrée pour le traitement de l'eau de consommation humaine (3 mg.min.L^{-1} soit un résiduel de 0,2 mg.L^{-1} pendant 15 minutes (Moles, 2007 ; Rodier et al., 2009)) mais il semble toutefois nécessaire de l'augmenter davantage pour atteindre de meilleures performances vis-à-vis des bactéries cultivables. Cependant un dysfonctionnement sur cette TAR a conduit à un débit de fuites et donc à un facteur de concentration ($R_C \approx 1,4$) bien inférieur à la consigne ($R_C \approx 2$). Dans le cas d'un fonctionnement normal, similaire à la tour traitée par H_2O_2/UV, le temps de séjour moyen de l'eau aurait été supérieur (t = 7,6 heures) induisant, pour un même résiduel de dioxyde de chlore, un Ct plus important. Ainsi l'ajustement du facteur de concentration aurait très certainement permis une meilleure efficacité de désinfection.

III.1.4. Cas des légionelles

Lors de cette période d'utilisation des tours aéroréfrigérantes, aucune légionelle (*Legionella* (ou légionelles totales) et *Legionella pneumophila* – quantifiées par culture) n'est détectée lors des analyses réglementaires (< 500 ufc.L^{-1}) quels que soient les taux de traitement appliqués.

Cependant l'analyse par PCR indique que *Legionella* est toujours présente dans l'eau d'une manière quantifiable ou non (Figure 58). Il faut rester prudent quant à cette mesure car elle détecte sans distinction les légionelles intracellulaires (dans les protozoaires ou les algues), les légionelles viables non cultivables et les légionelles mortes (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 2006). Elles sont d'ailleurs détectées de manière indifférenciée aussi bien dans l'eau d'appoint que dans l'eau traitée des tours.

Il semblerait cependant que les légionelles analysées par cette technique soient toujours quantifiables dans le cas de la TAR traitée au dioxyde de chlore ; contrairement à la TAR traitée par H_2O_2/UV où les légionelles sont également présentes mais non quantifiables. Il ne faut pourtant pas s'alarmer de tels résultats. En effet, en règle générale, les analyses par PCR conduisent à des valeurs supérieures à celles obtenues par culture (Yanez et al., 2005). Il est ainsi possible d'obtenir un signal par PCR alors que les analyses réglementaires (par culture) conduisent à des résultats négatifs (Joly et al., 2006). Quoiqu'il en soit, dans le cas des tours aéroréfrigérantes, les analyses réglementaires prévalent sur la technique par PCR. En effet, ces dernières ne peuvent les remplacer car il n'existe aucune corrélation entre ces deux techniques à cause de seuils variables dans la définition des limites de détection et de quantification par PCR (Joly et al., 2006).

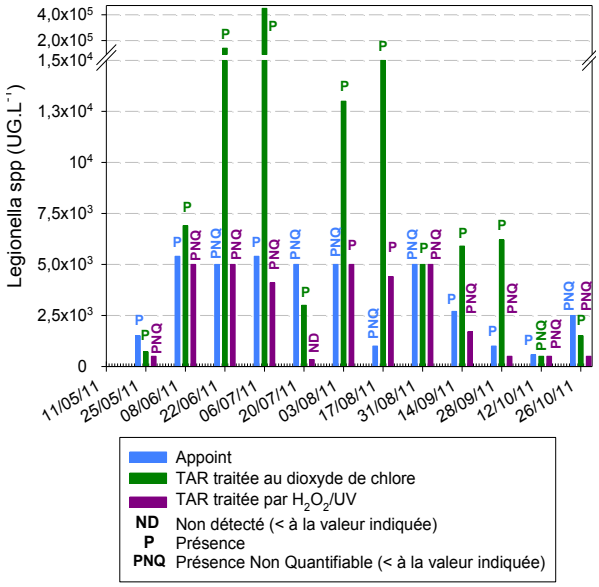


Figure 58 : Suivi de Legionella dans l'eau par analyse par PCR

Par contre, les analyses par PCR de *Legionella pneumophila* sont toutes négatives. Ces résultats sont valables aussi bien sur l'eau d'appoint que pour les eaux des tours. En effet, un résultat négatif en PCR correspond, dans la majorité des cas, à un résultat négatif par culture (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques, 2006).

Sur l'ensemble de l'étude, aucune *Legionella*, ni *Legionella pneumophila* ne sont quantifiées lors des analyses réglementaires. Il est cependant difficile d'en conclure à un risque Légionelles maîtrisée par les deux traitements puisque ces systèmes ne sont pas suffisamment ensemencés par ces bactéries pour observer un quelconque effet du couplage H_2O_2/UV ou du dioxyde de chlore. Malgré tout, il n'y a pas de développement inquiétant en légionelles dans ces systèmes lors des essais et l'absence totale de *Legionella pneumophila* est d'autant plus rassurante que cette bactérie est responsable pour 90% des cas de légionellose (Merchat, 2005).

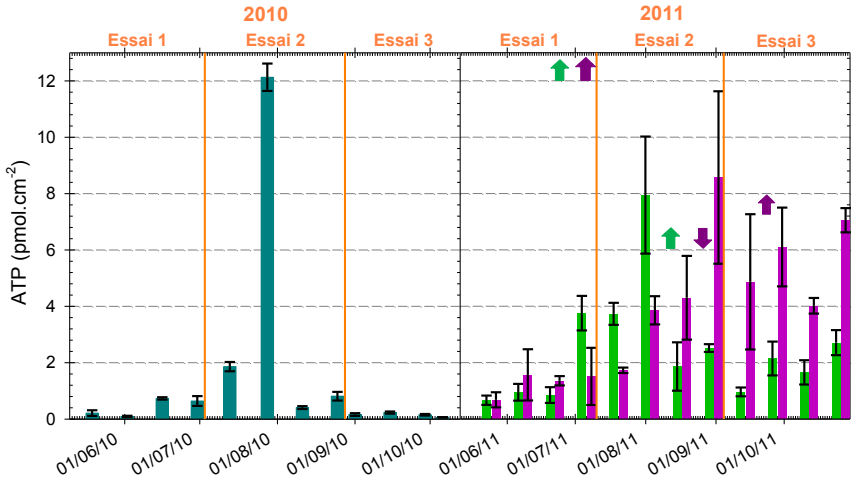
III.2. Formation et développement des biofilms

La mise en place d'un jeu de 12 lames de verre vierges au début de chaque essai dans le système, permet de mesurer la formation et le développement des biofilms sur ces substrats artificiels malgré la présence des traitements H_2O_2/UV et au dioxyde de chlore. Le développement des biofilms est suivi grâce aux paramètres habituellement mesurés au cours de cette étude : l'ATP (Figure 59a), les bactéries cultivables (Figure 59b) et les bactéries totales (Figure 59c). Le ratio entre bactéries cultivables et totales au sein des biofilms est également représenté sur la Figure 59d.

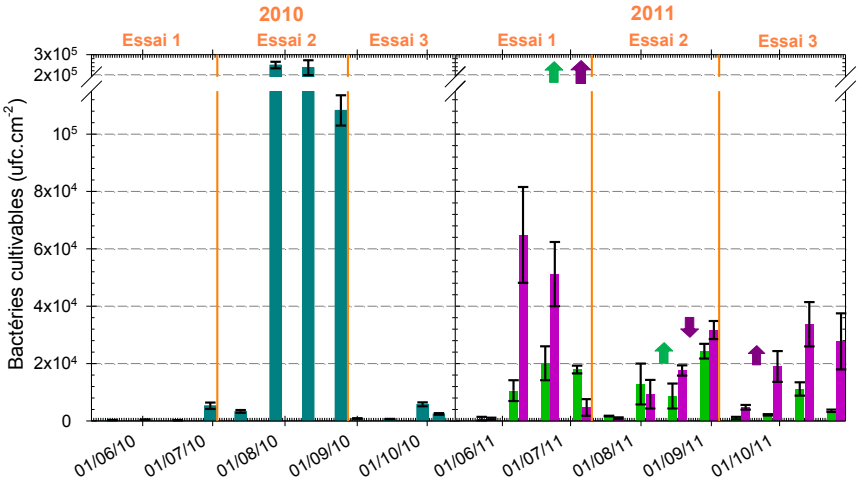
Les résultats reportés sur la Figure 59 montrent que l'application du traitement n'empêche pas la formation des biofilms sur les lames de verre placées dans le système, quel que soit le taux de traitement appliqué. La formation de ce biofilm est inéluctable car le traitement de désinfection n'a pas pour objectif de stériliser l'eau de la tour mais de contrôler la formation de ces biofilms afin de limiter les niches dans lesquelles les légionelles pourraient se développer. La comparaison des résultats obtenus sur la

campagne 2011 avec les biofilms développés lors de la campagne 2010, où était appliqué le traitement Isothiazolone / DBNPA, est utilisée en guise de « référence » et montre des efficacités différentes pour les traitements H_2O_2/UV et au dioxyde de chlore.

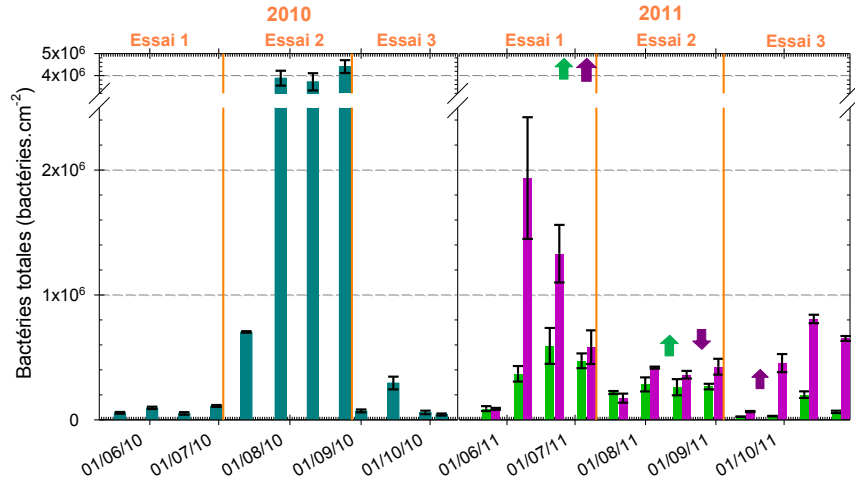
(a) ATP



(b) Bactéries cultivables



(c) Bactéries totales



(d) Ratio entre bactéries cultivables et totales

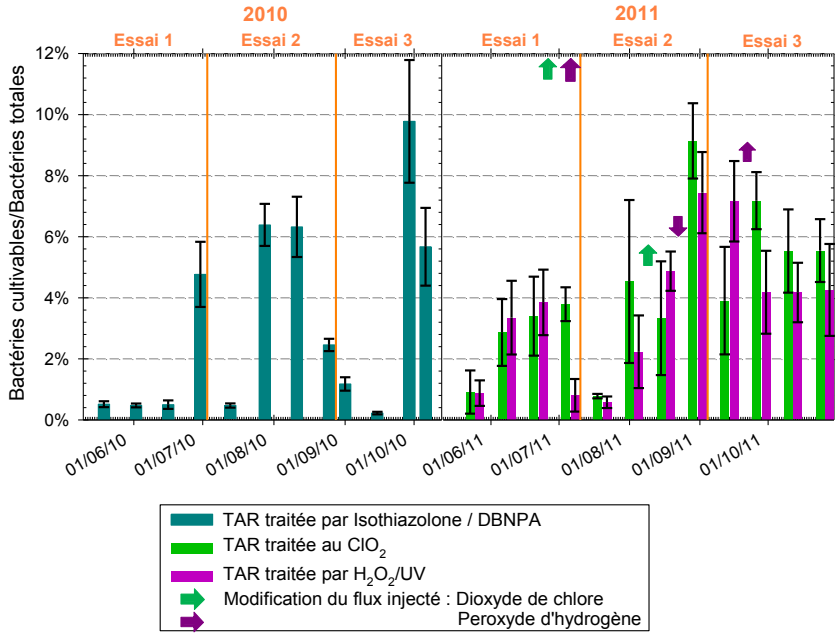


Figure 59 : Evolution temporelle des biofilms développés sur lames de verre au sein des tours aéroréfrigérantes traitées par H_2O_2/UV et ClO_2 et comparaison avec le traitement Isothiazolone / DBNPA de (a) l'ATP, (b) les bactéries cultivables, (c) les bactéries totales, (d) le ratio entre bactéries cultivables et totales

III.2.1. Traitement par H_2O_2/UV

Les résultats reportés sur la Figure 59 montrent que l'application du traitement H_2O_2/UV conduit à des teneurs pour les paramètres liés à la formation du biofilm (ATP, bactéries cultivables et totales) supérieures à celles obtenues pour le traitement au dioxyde de chlore. Comparativement aux résultats de 2010 où était appliqué le traitement Isothiazolone / DBNPA, les teneurs en ATP rencontrées sur la tour traitée par H_2O_2/UV sont globalement supérieures (Figure 59a). Le nombre de bactéries cultivables et totales est, quant à lui, légèrement supérieur à ces valeurs de « référence », sans pour autant atteindre les valeurs extrêmes obtenues lors de l'essai 2 réalisé en 2010 (Figure 59b et c). Les teneurs rencontrées lors de l'application du traitement H_2O_2/UV sont donc régulièrement plus importantes que celles obtenues avec l'application du traitement Isothiazolone / DBNPA. Il semblerait donc que les différents taux de traitements appliqués ne soient pas suffisants pour limiter la formation des biofilms au même degré que l'isothiazolone / DBNPA. Cependant, il n'est jamais atteint les seuils extrêmes rencontrés sur ce traitement de « référence ». Malgré ces différences, la part de bactéries cultivables dans les biofilms semble similaire quel que soit le traitement appliqué (Figure 59d).

Une dose UV de 6 à 7 $J.cm^{-2}$ et un résiduel moyen de 10,0 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène (essai 1) conduit à la formation de biofilms présentant une concentration stable en ATP de $1,3 \pm 0,4$ $pmol.cm^{-2}$ environ (Figure 59a). Cependant, les bactéries cultivables et totales présentes dans ces biofilms montrent des évolutions différentes, qui restent similaires entre elles. Un fort développement est observé après 4 semaines

d'« acclimatation », suivi par une diminution de ces teneurs sans modification du traitement appliqué et de manière plus rapide dans le cas des bactéries cultivables que totales (Figure 59b et c). Il est assez surprenant d'observer les plus fortes teneurs en bactéries cultivables et totales dans les biofilms pour cet essai, alors que l'application de ce taux de traitement présente de bons résultats de désinfection sur l'eau du système avec les concentrations les moins importantes. Cependant la diminution du nombre de bactéries cultivables et totales après le 22 juin 2011 et l'évolution similaire de la part de bactéries cultivables dans les biofilms peuvent laisser penser qu'un état stabilisé des biofilms n'est pas obtenu contrairement aux valeurs d'ATP. De telles évolutions sont peut-être liées aux irrégularités de fonctionnement du système rencontrées sur cet essai (arrêt programmé sur trois jours, coupures électriques, phase de réglages du traitement).

La diminution du résiduel moyen en peroxyde d'hydrogène (passage de 10,0 $mg.L^{-1}$ à 2,7 $mg.L^{-1}$) (essai 2) conduit à une inversion de la tendance. Sur les 8 semaines de traitement à cette dose, le biofilm se développe de façon importante sur les lames vierges sans atteindre de palier : l'ATP et les bactéries cultivables ont une croissance exponentielle alors que les bactéries totales restent à des niveaux raisonnables dans le biofilm : $(4,0 \pm 0,4).10^5$ bactéries.cm^{-2}. Ces résultats confirment ceux obtenus sur l'analyse de l'eau qui avaient montré une quantité très importante de bactéries totales dans l'eau circulante. Ainsi, malgré la présence des UV, la concentration en peroxyde d'hydrogène est trop faible pour maintenir une croissance contrôlée du biofilm.

L'application d'une dose UV de 2 à 3 $J.cm^{-2}$ et d'un résiduel moyen en peroxyde d'hydrogène de 4,3 $mg.L^{-1}$ (essai 3) conduit à la formation et au développement de biofilms qui se stabilisent au bout de 4 semaines d'application du traitement. Les caractéristiques moyennes sont de $5,5 \pm 1,3$ pmol.cm^{-2} pour l'ATP ; $(2,7 \pm 0,7).10^4$ ufc.cm^{-2} pour les bactéries cultivables et $(6,4 \pm 1,8).10^5$ bactéries.cm^{-2} pour les bactéries totales, avec 4,2% de bactéries cultivables dans les biofilms. De telles valeurs sont comprises dans la gamme des essais précédents ; mais reste néanmoins supérieures aux valeurs moyennes obtenues avec l'application du traitement habituel pour ces tours (Isothiazolone / DBNPA).

La durée de vie très courte des radicaux hydroxyles (quelques microsecondes) et l'action limitée des UV à leur surface d'irradiation ne permettent pas un impact important du traitement sur les biofilms. Cependant ce couplage semble conduire à un contrôle dans leur développement au sein du système, principalement dans le cas de l'application de 2 à 3 $J.cm^{-2}$ et 4,3 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène, où les biofilms sont stabilisés avec des résultats intéressants au niveau de la désinfection de l'eau : faibles teneurs en bactéries cultivables et diminution importante des bactéries totales présentes dans le système. Il semblerait donc que le couple dose UV / résiduel moyen en peroxyde d'hydrogène de 2 à 3 $J.cm^{-2}$ / 4,3 $mg.L^{-1}$ soit le plus optimal dans le maintien d'une désinfection de la tour aéroréfrigérante.

Ce résiduel de peroxyde d'hydrogène appliqué peut pourtant paraître bien faible. En effet, Lakretz et al. (2011a), lors de leur étude en laboratoire menée sur des suspensions de *Pseudomonas aeruginosa*, montrent que l'application du couplage H_2O_2/UV (lampe à moyenne pression de mercure) avec maintien d'un résiduel en peroxyde d'hydrogène durant la phase d'acclimatation limite la formation de biofilms seulement si une concentration minimale de 10 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène est appliquée. Or, dans

cette étude, le résiduel moyen de 4,3 mg.L^{-1} permet un contrôle des biofilms se développant dans le système. Il est donc nécessaire de trouver le bon couple entre la dose UV appliquée et le résiduel en peroxyde d'hydrogène maintenu dans le système. Malgré tout, les teneurs en ATP et bactéries totales rencontrées lors de cet essai, peuvent paraître importantes vis-à-vis des précédents essais de cette campagne. L'application d'une concentration en peroxyde d'hydrogène plus élevée peut être envisagée afin de limiter davantage le développement de ces biofilms.

Cette activité microbiologique des biofilms se traduit également par une consommation importante de l'oxydant avec une difficulté à maintenir un résiduel d'H_2O_2 (Tableau 23 et Figure 52). En effet, alors qu'un flux de 1,9 g.h^{-1} de peroxyde d'hydrogène permet de maintenir un résiduel moyen de 10,0 mg.L^{-1} lors de l'essai 1 ; il est nécessaire d'injecter 3,2 $g_{H_2O_2}.h^{-1}$ pour conserver une concentration plus faible de 2,7 $mg_{H_2O_2}.L^{-1}$ lors de l'essai 2 avec la même énergie de lampe (Tableau 23).

Des expériences complémentaires ont été réalisées en laboratoire afin de déterminer si l'augmentation du flux de peroxyde d'hydrogène est liée au fonctionnement de la tour (purge de déconcentration) ou si elle est liée à un dysfonctionnement du traitement (corrosion, adaptation des biofilms). Afin de mettre en évidence une consommation du peroxyde d'hydrogène au sein de la tour aéroréfrigérante, des cinétiques de décomposition du peroxyde d'hydrogène ($\overline{[H_2O_2]_0}$ = 19,8 ± 5,2 mg.L^{-1}) ont été réalisées directement dans la tour, groupe froid, ventilation et lampes UV à l'arrêt. Les résultats reportés sur la Figure 60 montrent clairement que la concentration en peroxyde d'hydrogène est constante lors de l'essai réalisé en mai 2011 (début de l'essai 1) alors que plus de 70% du peroxyde d'hydrogène est éliminé en moins d'une heure au début de l'essai 3 (septembre – octobre 2011).

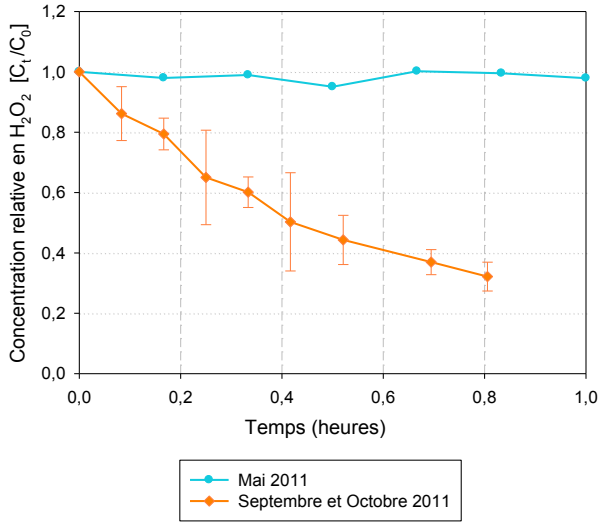


Figure 60 : Consommation de peroxyde d'hydrogène dans la TAR avec arrêt du groupe froid et de la ventilation. Concentration initiale en H_2O_2 ≈ 20 mg.L^{-1}

Pour pousser plus loin l'investigation sur le dysfonctionnement du traitement, des cinétiques complémentaires de décomposition du peroxyde d'hydrogène

($\overline{[H_2O_2]_0}$ = 22,0 ± 3,6 mg.L^{-1}) ont été réalisées en laboratoire sur l'eau et les dépôts particulaires prélevés dans la tour. Ainsi plusieurs cinétiques ont été effectuées sur :

- l'eau de la TAR filtrée sur membrane à 0,45 µm,
- l'eau de la TAR avec présence de particules (275 mg.L^{-1} de MES),
- l'eau de la TAR avec présence de particules tyndallisées (275 mg.L^{-1} de MES).

L'essai sur l'eau filtrée permet de savoir si les particules ont un rôle dans la consommation du peroxyde d'hydrogène. La tyndallisation permet, quant à elle, de différencier le rôle des particules (phénomène chimique) de celui des biofilms potentiellement présents (phénomène biologique). En effet, la tyndallisation est une méthode de stérilisation visant à chauffer l'eau à 70°C pendant une heure sur trois jours consécutifs. Cette technique douce de stérilisation présente l'avantage de ne pas dénaturer le milieu par l'utilisation de températures plus élevées. Son principe est basé sur l'activation thermique : la phase de chauffage permet de tuer les formes végétatives du milieu et d'induire la génération d'éventuelles spores. Les temps de latence laissés entre chaque période de chauffe permettent le développement de nouvelles bactéries à partir des spores, qui seront éliminées lors de l'augmentation de température suivante. Ainsi progressivement toutes les spores du milieu et les bactéries sont éliminées, ce qui conduit à sa stérilisation. La tyndallisation des particules prélevées dans la tour permet de réduire la quantité de bactéries cultivables de 23 000 ufc.mL^{-1} à seulement 120 ufc.mL^{-1} (limite de quantification). La tyndallisation, montre un abattement conséquent (99,5%) du nombre de bactéries cultivables, ce qui permet de pouvoir évaluer l'impact lié à la flore bactérienne présente sur les particules.

Les cinétiques de décomposition du peroxyde d'hydrogène, reportées sur la Figure 61, montrent clairement le rôle des particules et des biofilms développés à leur surface sur la stabilité du peroxyde d'hydrogène dans ce milieu. En effet, l'eau brute de la tour additionnée de particules conduit à un abattement de 80% de la concentration du peroxyde d'hydrogène en 2 heures alors qu'une eau contenant des particules tyndallisées limite ce phénomène avec une faible diminution de cette concentration à l'image de l'eau filtrée. Ainsi, il semblerait que la consommation de peroxyde d'hydrogène soit liée à la présence des biofilms développés sur ces particules qui proviennent de la tour aéroréfrigérante et surtout à leur adaptation face à cet oxydant.

D'une manière similaire aux essais réalisés sur le pilote de laboratoire, les bactéries ont très certainement mis en place un système enzymatique neutralisant cet oxydant (enzymes catalase, peroxydase ou superoxyde dismutase) (Fiorenza et Ward, 1997 ; Schulte, 2003). L'adaptation des bactéries a été observée lorsque les concentrations résiduelles en peroxyde d'hydrogène ont été abaissées (essai 2) se caractérisant par une augmentation importante des bactéries totales dans l'eau et un flux de peroxyde d'hydrogène injecté plus important. Cependant, l'analyse des biofilms ne permet pas de relever d'anomalies particulières sur les paramètres microbiologiques car les évolutions restent relativement modérées.

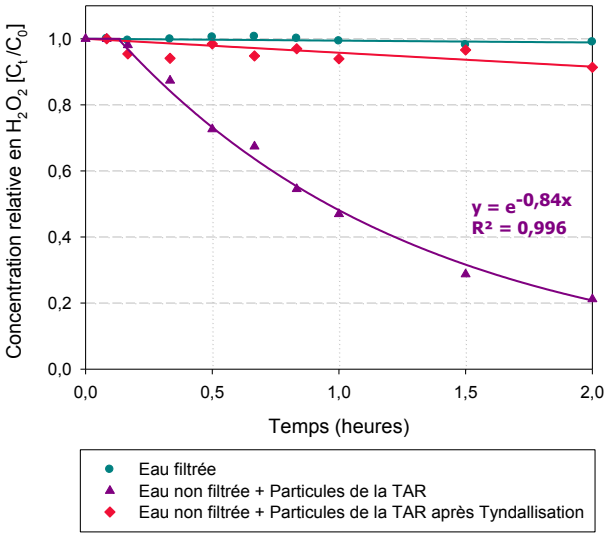


Figure 61 : Détermination de l'origine de consommation excessive de peroxyde d'hydrogène au sein de la tour aéroréfrigérante. Concentration initiale en H_2O_2 ≈ 22 mg.L^{-1}

Cette adaptation des bactéries observées au cours des essais implique quelques recommandations sur l'application du traitement H_2O_2/UV dans une tour aéroréfrigérante. Le résiduel de peroxyde d'hydrogène maintenu dans le système doit être suffisant afin d'inhiber les enzymes mises en place. En effet, l'adaptation des microorganismes, entraînant une réduction du peroxyde d'hydrogène, ne permettra pas de produire assez de radicaux hydroxyles pour constituer un stress oxydatif, ce qui limitera l'efficacité du traitement. Il est donc nécessaire de prendre en compte l'ensemble des paramètres (suivi du traitement, paramètres microbiologiques) afin de trouver le bon couple entre l'énergie délivrée par les UV et le résiduel d'H_2O_2 dans la TAR, et de veiller à ce qu'une « dérive » du système ne s'installe pas de manière durable.

III.2.2. Traitement au dioxyde de chlore

Contrairement au couplage H_2O_2/UV où différents taux de traitement sont appliqués, le résiduel de dioxyde de chlore, d'environ 0,07 à 0,08 mg.L^{-1} dans l'eau de la tour, est conservé sur toute la campagne d'essais. Comparativement au traitement de « référence » appliqué l'année précédente (Isothiazolone / DBNPA), les teneurs en ATP sont d'une manière générale plus élevées (Figure 59a). Par contre, le nombre de bactéries cultivables et totales présentent des taux similaires, voire même inférieurs (Figure 59b et c). Similairement au traitement H_2O_2/UV, les valeurs extrêmes (bactéries cultivables et totales) obtenues lors de l'essai 2 où était appliqué le traitement Isothiazolone / DBNPA ne sont jamais atteintes et restent bien plus faibles. La part de bactéries cultivables dans les biofilms soumis au traitement au dioxyde de chlore est du même ordre de grandeur que pour l'ensemble des autres traitements appliqués (Figure 59d).

Le maintien de ce résiduel en dioxyde de chlore conduit à des teneurs microbiologiques similaires au sein des biofilms formés et développés sur les lames de verre. Il est ainsi mesuré entre 0,9 ± 0,3 et 3,8 ± 0,6 pmol.cm^{-2} d'ATP avec une valeur maximale de 8,0 ± 2,1 pmol.cm^{-2}, contrôlée par la forte augmentation du flux d'injection de dioxyde de chlore. Les bactéries cultivables présentent des valeurs comprises entre (2,3 ± 0,2).10^3 et

$(2,4 \pm 0,3).10^4$ ufc.cm^{-2}, et entre $(9,8 \pm 9,1).10^4$ et $(4,8 \pm 1,1).10^5$ bactéries.cm^{-2} pour les bactéries totales.
L'essai 2 montre les caractéristiques les moins stables avec une évolution importante de la part des bactéries cultivables au sein des biofilms. Cependant, l'application d'un flux plus important de dioxyde de chlore suivie par la mise en place de nouvelles lames de verre met en avant de bien meilleurs résultats lors de l'essai 3, correspondant aussi à une période aux températures moins élevées.

Les études rencontrées dans la littérature portant sur le dioxyde de chlore et les biofilms s'orientent principalement sur l'eau de consommation. Il s'avère que cet oxydant est efficace mais nécessite le maintien d'un résiduel dans le système afin de contrôler à long terme la croissance microbiologique (Gagnon et al., 2005 ; Loret et al., 2005 ; Schwartz et al., 2003). Dans le cas des tours aéroréfrigérantes, il semblerait qu'il en soit de même. Cependant, les études publiées dans la littérature ne portent pas sur le suivi de la formation et du développement de biofilms dans un système soumis à un traitement au dioxyde de chlore, mais observent son efficacité après une phase d'acclimatation et de développement des biofilms, ce qui correspond davantage à l'esprit des travaux menés en laboratoire avec le couplage H_2O_2/UV. Les doses appliquées sont également plus importantes que le résiduel moyen de 0,08 mg.L^{-1} de cette étude. Ainsi, Gagnon et al. (2005) montrent une réduction des bactéries hétérotrophes comprise entre < 1-log et 2-log pour des doses de 0,25 mg.L^{-1} et 0,5 mg.L^{-1} respectivement. Loret et al. (2005) montrent une élimination des biofilms suite à l'application de 0,5 mg.L^{-1} durant 100 jours, via une réduction de leur épaisseur (abattement de 30% environ).

Malgré l'application d'un résiduel plus faible que ceux rencontrés dans la littérature, le dioxyde de chlore montre une bonne efficacité dans le contrôle de la croissance des biofilms dans les tours aéroréfrigérantes sur des substrats artificiels. La pénétration de cet oxydant dans les biofilms conduit ainsi à des niveaux bien inférieurs à ceux observés dans la tour traitée par H_2O_2/UV, où les impacts des radicaux hydroxyles et des ultraviolets sont plus limités.

III.2.3. Cas des légionelles

Aucune légionelle cultivable (*Legionella* et *Legionella pneumophila)* n'a été détectée dans les biofilms analysés, quel que soit le traitement étudié. Contrairement aux analyses réalisées sur l'eau, les légionelles n'ont pas été analysées par PCR.

D'une manière générale, les traitements au dioxyde de chlore et par le couplage H_2O_2/UV ont montré de bonnes performances quant à la désinfection de l'eau des tours aéroréfrigérantes. Pour ces deux traitements, la formation des biofilms au sein des systèmes est maîtrisée et aucune légionelle cultivable n'a été détectée au cours de cette campagne d'essais. Il est toutefois nécessaire de contrôler la présence d'un résiduel en oxydant afin d'éviter un développement bactérien excessif.

III.3. Impacts environnementaux des traitements

III.3.1. Couplage H_2O_2/UV

Le peroxyde d'hydrogène présente le grand avantage de se décomposer en eau et oxygène. La présence d'un résiduel à quelques milligrammes par litre n'induira pas de toxicité particulière sur les rejets et n'entraînera pas d'impact environnemental néfaste.

Cependant, le couplage H_2O_2/UV peut conduire en présence de matière organique à la formation d'acide oxalique et formique, d'aldéhydes, et de cétones (Corin et al., 1996 ; Kleiser et Frimmel, 2000 ; Sarathy et Mohseni, 2009). Mais ces composés formés sont de plus faibles poids moléculaires, plus hydrophiles et biodégradables. De plus, dans le cas d'une application poussée de ce traitement, la matière organique peut être totalement minéralisée, conduisant à la libération de dioxyde de carbone. Une analyse effectuée sur un échantillon du pilote ayant subi le traitement H_2O_2/UV n'a montré la présence d'aucun THM (< 4 $\mu g.L^{-1}$ pour la somme des 4 THM), ni d'AOX (< 0,01 $mg_{Cl}.L^{-1}$).

Les lampes UV employées sont particulièrement polluantes pour l'environnement à cause de la présence de vapeur de mercure. Grâce aux collectes sélectives, leur impact peut être limité car elles seront alors envoyées vers une filière de traitement appropriée, qui pourra récupérer ce mercure.

III.3.2. Dioxyde de chlore

Le dioxyde de chlore est un oxydant hautement sélectif avec les composés organiques et minéraux contenus dans l'eau. Du fait de sa structure radicalaire, le dioxyde de chlore va se comporter comme un accepteur d'électrons [85] :

$$ClO_2 + e^- \rightleftarrows ClO_2^- \qquad [85]$$

$$E^{\circ}_{ClO_2(\text{liquide dissous})/ClO_2^-} = 0{,}95\ V$$

$$E^{\circ}_{ClO_2(\text{gaz dissous})/ClO_2^-} = 1{,}15\ V$$

Il réagit en particulier avec des composés qui peuvent facilement céder un électron, comme les ions nitrite, le fer ferreux, les composés aromatiques ayant des groupements activant tels que $-OH$, $-NH_2$ ou $-NR$ (dérivés du phénol et de l'aniline) (Ben Amor et al., 1984 ; Masschelein, 2001). D'autres composés, comme les amines tertiaires ou secondaires ou des composés possédant des fonctions $C = S$, sont également oxydés par le dioxyde de chlore. Du fait de ce mécanisme de transfert de charge, un grand nombre de produits organiques sont relativement peu ou pas réactifs vis-à-vis du ClO_2. Tous les produits d'oxydation formés ne sont pas tous identifiés mais il est possible de citer : les aldéhydes (formaldéhyde, acétaldéhyde, le glyoxal, le methylglyoxal) et les acides carboxyliques (acides formique, acétique, oxalique) (Dabrowska et al., 2003; Swietlik et al., 2009). Le dioxyde de chlore peut également conduire à la formation de sous-produits d'oxydation halogénés (trihalométhanes et acides haloacétiques) mais en quantités moindres que dans le cas d'un traitement au chlore (Hofmann et al., 1999 ; Lafrance et al., 1993 ; Werdehoff et Singer, 1987). Ainsi, les principaux rejets issus des réactions d'oxydation au dioxyde de chlore sont d'une part les ions chlorite et chlorate issus de la réduction du dioxyde de chlore, et d'autre part les produits d'oxydation issus de la matière organique.

i. Sous-produits d'oxydation

Dans le cas du traitement de l'eau de la tour, les produits d'oxydation de la matière organique n'ont pas été identifiés étant donné la faible teneur en matière organique de l'eau entrante (eau de consommation ; COT < 0,3 $mg.L^{-1}$). De plus, le faible résiduel de dioxyde de chlore maintenu dans l'eau conduirait aussi à des teneurs relativement faibles de ces composés. Cependant, le contrôle de la présence des trihalométhanes et surtout des composés organohalogénés adsorbables sur charbon actif (paramètre réglementé dans l'arrêté du 13 décembre 2004 (Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable, 2004)) est nécessaire car de tels composés peuvent potentiellement être formés lors d'un traitement au dioxyde de chlore. Cette analyse, réalisée à la fin de la campagne d'essais, n'a montré aucune présence de THM (< 4 $\mu g.L^{-1}$ pour la somme des 4 THM), ni d'AOX (< 0,01 $mg.L^{-1}$ de chlore) dans l'eau traitée. Un suivi plus régulier serait nécessaire afin de confirmer ces résultats.

ii. Ions chlorite et chlorate

La présence d'ions chlorite dans les eaux est presque exclusivement due à la réduction du dioxyde de chlore. La principale réaction redox entre le dioxyde de chlore et la matière organique joue un rôle dominant dans la décomposition du dioxyde de chlore en chlorite.

Les ions chlorite et chlorate sont nocifs pour les organismes aquatiques dans le cas où l'eau de la tour aéroréfrigérante est directement rejetée dans le milieu naturel ou dans un réseau d'assainissement collectif dépourvu de station d'épuration. Alors que les ions chlorite sont le principal produit de réduction du dioxyde de chlore, les ions chlorate proviennent de son hydrolyse ou bien de sa génération (Veschetti et al., 2005). La présence éventuelle d'ions chlorate peut être également liée aux solutions de chlorite de sodium employées pour la génération de dioxyde de chlore si elles sont stockées sur de longues périodes et plus particulièrement à de hautes températures ambiantes (World Health Organisation, 2011).

L'analyse de l'eau de purge de la tour a permis de quantifier les ions chlorite et chlorate au cours de la campagne de traitement de l'eau de la tour. Les gammes de concentrations rencontrées lors de cette étude sont :

- pour les ions chlorite : < 0,10 $mg.L^{-1}$ – 1,50 $mg.L^{-1}$,
- pour les ions chlorate : < 0,10 $mg.L^{-1}$ – 1,00 $mg.L^{-1}$.

Etant donné le mode de fonctionnement continu de la tour, le taux de conversion du dioxyde de chlore en ions chlorite et chlorate a été calculé à partir des flux massiques de chaque espèce, et non à partir de leurs concentrations résiduelles (Figure 62). Le taux de conversion du $NaClO_2$ en ClO_2 étant proche de 100%, l'apport d'ions chlorite par l'injection du dioxyde de chlore a été négligé. Les ions chlorite sont donc formés principalement par la décomposition du dioxyde de chlore, soit environ 60% du dioxyde de chlore consommé (Figure 62). Cette valeur est en adéquation avec la littérature, estimant une proportion de chlorite formés à partir du dioxyde de chlore consommé comprise entre 50 et 70% (Gordon, 1992 ; Lee et al., 2004 ; Masschelein, 1997 ; Veschetti et al., 2005). Concernant les ions chlorate, ils représentent 43% du dioxyde de chlore consommé (Figure 62). Cette valeur semble élevée comparativement aux valeurs

publiées dans la littérature (15% à pH = 7 (U.S. Department of Health and Human Services, 2004)).

(a) Chlorite (b) Chlorate

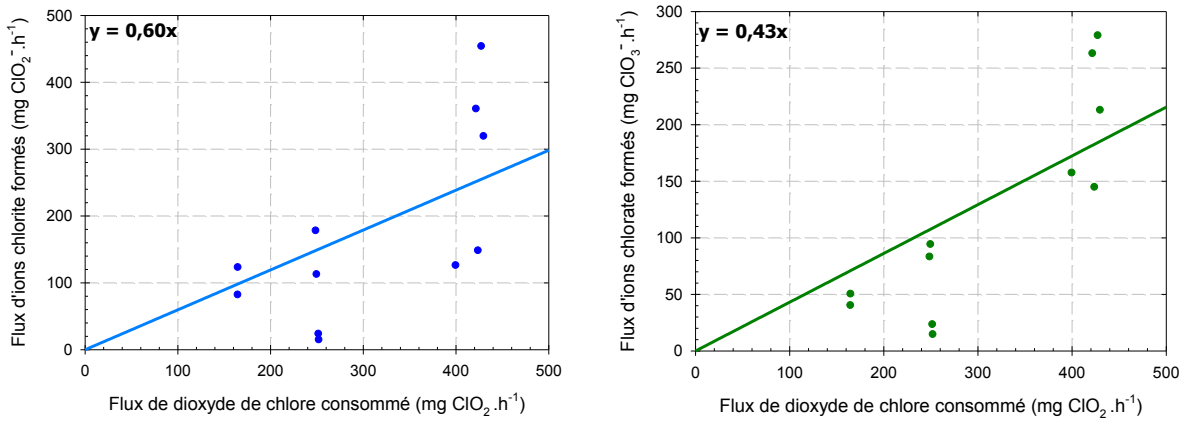


Figure 62 : Formation des ions (a) chlorite et (b) chlorate à partir du dioxyde de chlore consommé

Les concentrations résiduelles en ions chlorite et chlorate comparativement aux concentrations résiduelles en dioxyde de chlore dans les eaux de purge indiquent qu'une quantité importante du dioxyde de chlore dissous a été consommée par des réactions de réduction. Sur cette tour, le dioxyde de chlore se retrouve après injection dans le système sous différentes formes [86] :

$$ClO_{2,injecté} = ClO_{2,strippé} + ClO_{2,consommé} + ClO_{2,résiduel} \qquad [86]$$

A cause du stripping important, seul 30% du dioxyde de chlore injecté se retrouve dans l'eau. Cependant, sur cette partie, 94% est consommé, les 6% restants correspondent au résiduel retrouvé dans la purge.

Actuellement, les seules valeurs limites connues pour ces espèces sont rencontrées sur l'eau de consommation, où la règlementation française fixe une valeur maximale de 200 µg.L^{-1} pour les ions chlorites (Ministère de la Santé et des Solidarités, 2007) alors qu'aucun seuil n'est donné sur les ions chlorate. Pour ces derniers, l'OMS fixe une concentration maximale de 700 µg.L^{-1} (World Health Organisation, 2011).

Les concentrations résiduelles de ces deux espèces dans les eaux de purge sont cependant relativement faibles et ne devraient pas avoir d'impacts sur le milieu récepteur avec la dilution des effluents. Par ailleurs, les eaux de purge des tours aéroréfrigérantes de ce site d'étude ne sont pas rejetées dans le milieu naturel mais le réseau d'assainissement de la ville de Grenoble. Dans le cas contraire, il serait nécessaire de prendre en compte ces espèces lors d'un rejet dans le milieu naturel, vis-à-vis des organismes aquatiques.

iii. Ions chlorure

Les ions chlorure – injectés directement via l'excès d'acide chlorhydrique utilisé pour la génération du dioxyde de chlore – induisent un risque de corrosion important. Il est donc nécessaire d'optimiser au mieux cette injection d'oxydant afin de limiter au maximum les composés néfastes aux matériaux de la tour, ou bien d'utiliser une méthode alternative quant à la génération de dioxyde de chlore, comme le remplacement de l'acide

chlorhydrique par l'AMS (CH_3SO_3H) qui réduit alors la quantité de chlorure formés et introduits dans le système (Suty et Mekarbane, 2000).

iv. Stripping du ClO_2 dans l'atmosphère

Le bilan matière sur l'injection du dioxyde de chlore a montré qu'une part importante du dioxyde de chlore injecté est transférée dans l'atmosphère. Celui-ci peut alors soit réagir avec des polluants atmosphériques selon des réactions similaires à celles rencontrées dans l'eau, soit se photolyser sous l'effet de la radiation solaire ($\lambda < 500$ nm). La photolyse du dioxyde de chlore conduit à la formation de chlore et d'oxygène [87], mais aussi de radicaux $ClO^{\bullet}$ [88] (Dobson et Cary, 2002 ; Doré, 1989 ; Masschelein, 1997) :

$$ClO_2 + h\upsilon \rightarrow \frac{1}{2}Cl_2 + O_2 \qquad [87]$$

$$ClO_2 + h\upsilon \rightarrow ClO^{\bullet} + O^{\bullet} \qquad [88]$$

En phase gazeuse, l'équation [88] se produit préférentiellement avec un rendement quantique de 0,95 (Roth et al., 1997) ; alors qu'il est inférieur à 0,04 pour la formation de chlore [87] (Quiroga et Perissinotti, 2005).

Les radicaux formés peuvent ensuite réagir et conduire à la formation de trioxyde de chlore [89] et finalement de chlore et d'oxygène [90]. Le trioxyde de chlore peut également évoluer pour former son dimère [91] ou libérer du chlore par décomposition thermique [92] (Doré, 1989) :

$$ClO_2 + O^{\bullet} \rightarrow ClO_3 \qquad [89]$$

$$2ClO^{\bullet} \rightarrow Cl_2 + O_2 \qquad [90]$$

$$2ClO_3 \rightarrow Cl_2O_6 \qquad [91]$$

$$2ClO_3 \rightarrow Cl_2 + 3O_2 \qquad [92]$$

En présence d'humidité, il se formera davantage un mélange d'acide hypochloreux HClO, chloreux $HClO_2$, chlorique $HClO_3$ et perchlorique $HClO_4$.

Ce rejet de dioxyde de chlore gazeux est un inconvénient majeur car le chlore et les radicaux $ClO^{\bullet}$ résultant de sa photolyse vont pouvoir réagir avec des polluants atmosphériques pour former des composés organochlorés potentiellement toxiques.

III.3.3. Devenir de l'additif suite à l'application des traitements

L'eau d'appoint de la tour est conditionnée avec de l'A-REF 610 (polycarboxylate de zinc) pour éviter l'entartrement et la corrosion du système. Un suivi particulier de ce produit – via la mesure du résiduel de zinc dissous (Figure 63) et du carbone organique total (Figure 57) – a été réalisé au cours de cette étude sur les deux tours aéroréfrigérantes. Ce réactif a été injecté dans l'eau d'appoint à une concentration de 70 mg.L^{-1} (soit $[Zn^{2+}] = 0,6 \pm 0,1$ mg.L^{-1} et $[COT] = 2,2 \pm 0,1$ mg.L^{-1}) ; et pour assurer le bon fonctionnement de la tour, il est recommandé de maintenir une teneur résiduelle en zinc dissous comprise entre 0,5 et 1 mg.L^{-1}.

L'ensemble des résultats (zinc et COT) sont synthétisés dans le Tableau 28 pour chaque essai et chaque eau étudiée (appoint, TAR).

Tableau 28 : Concentration moyenne en zinc dissous et en carbone organique total selon les essais et les traitements appliqués

		Appoint	H_2O_2/UV	ClO_2
Zinc dissous ($mg.L^{-1}$)	**Essai 1**	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,3	0,9 ± 0,2
	Essai 2	0,2 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,6 ± 0,2
	Essai 3	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1	0,2 ± 0,1
Carbone organique total ($mg.L^{-1}$)	**Essai 1**	1,7 ± 0,4	3,5 ± 0,9	2,4 ± 0,9
	Essai 2	0,4 ± 0,1	1,3 ± 0,4	1,5 ± 0,5
	Essai 3	0,4 ± 0,1	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,5

Au cours de l'essai 1, l'eau d'appoint présente une teneur moyenne en zinc dissous de 0,6 ± 0,2 $mg.L^{-1}$ et 1,7 ± 0,4 $mg.L^{-1}$ de carbone organique total (Tableau 28). De telles valeurs sont similaires à ce qu'il est effectivement attendu pour une concentration de 70 $mg.L^{-1}$ d'A-REF 610. Cependant, dès l'essai 2, les teneurs en zinc et carbone mesurées sont nettement inférieures et ne correspondent plus à la consigne d'injection de ce produit. Les concentrations moyennes sont alors de l'ordre de 0,2 ± 0,1 $mg.L^{-1}$ de zinc dissous et 0,4 ± 0,1 $mg.L^{-1}$ de carbone organique total. Cette absence de produit est liée à une fuite sur sa vanne d'injection décelée fin septembre, mais très certainement présente dès juillet. Ainsi, seule la période de l'essai 1 permet d'étudier une injection « normale » de l'additif dans le système.

Les concentrations en zinc dissous relevées sur les deux tours aéroréfrigérantes sont maintenues pour les deux premiers essais à la limite basse de la consigne d'utilisation préconisée. Dans le cas du dernier essai, le manque d'injection de produit conduit à des teneurs bien trop faibles dans le système. Le phénomène de concentration dans la tour semble permettre le maintien d'un résiduel en zinc dissous au sein du système malgré la dégradation connue de l'additif par le couplage H_2O_2/UV. Cependant, la concentration résiduelle en zinc pour le traitement H_2O_2/UV est inférieure à celle attendue ($R_C \approx 1,8$) indiquant qu'une partie du zinc a précipité alors que la teneur en COT confirme une conservation de la partie carbonée de l'inhibiteur. En effet, alors que le facteur de concentration est plus important que celui de la TAR traitée par le dioxyde de chlore ($R_C \approx 1,4$), les concentrations rencontrées sur la TAR H_2O_2/UV sont moins importantes (Tableau 28). Il y a donc bien dégradation de l'additif par le couplage. Une explication possible est l'oxydation par les radicaux hydroxyles de la structure chimique carbonée de l'inhibiteur sans la minéraliser mais en décomplexant partiellement le zinc qui, sous l'effet du pH, précipite. Il est également possible que l'inhibiteur soit oxydé partiellement avec une perte de carbone, mais que celle-ci soit masquée par une autre source qui pourrait être liée à l'élimination des microorganismes. Le carbone organique total étant une mesure globale, l'origine de la matière organique ne peut malheureusement pas être différenciée par cette analyse.

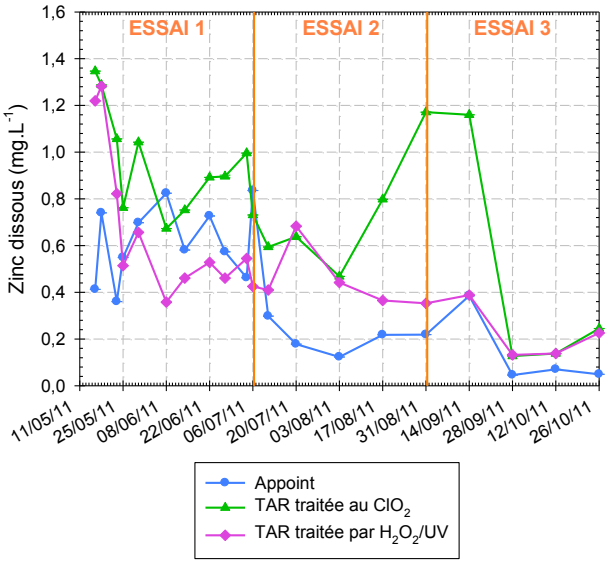


Figure 63 : Evolution du zinc dissous sur le site du Conseil général de l'Isère

L'évolution temporelle des concentrations en zinc – reportée sur la Figure 63 – montre que, malgré la dégradation du produit antitartre et anticorrosion employé par le couplage H_2O_2/UV, le phénomène de concentration se produisant au sein de la tour aéroréfrigérante permet de conserver des teneurs acceptables vis-à-vis des recommandations. Il est néanmoins nécessaire de surveiller régulièrement la présence de l'additif en quantités suffisantes dans le système, tant sur la TAR traitée par H_2O_2/UV où le traitement le dégrade, que sur la TAR traitée par le dioxyde de chlore où l'injection de la solution oxydante introduit des ions chlorure pouvant conduire à un phénomène de corrosion, ayant des conséquences parfois désastreuses.

IV. Evaluation des coûts de fonctionnement

Une première approche des coûts de fonctionnement du couplage H_2O_2/UV et du dioxyde de chlore a été réalisée à partir des essais effectués sur ces deux tours aéroréfrigérantes, comparés aux traitements usuels à l'isothiazolone et DBNPA. Dans ce calcul, seuls les coûts liés aux réactifs, consommables utilisés ainsi que l'électricité consommée ont été considérés.

Ces coûts ont été calculés à partir des conditions de fonctionnement de la tour pour un résiduel de 0,08 $mg.L^{-1}$ en dioxyde de chlore et pour les conditions relatives à l'essai 1 ($[H_2O_2]_{résiduelle}$ = 10 $mg.L^{-1}$; 2 lampes 55 $W_{électrique}$). Les résultats reportés dans le Tableau 29 conduisent à un coût moyen estimé de 155 $€_{HT}$ pour le traitement au dioxyde de chlore et 128 $€_{HT}$ pour le traitement par le couplage H_2O_2/UV. Néanmoins, la différence de fonctionnement entre les deux tours aéroréfrigérantes nécessite un ajustement réalisé en rapportant ces coûts aux puissances échangées. Ainsi, le traitement au dioxyde de chlore a un coût de fonctionnement moyen de 0,020 $€_{HT}/kW_{échangé}$, et le traitement par le couplage H_2O_2/UV de 0,022 $€_{HT}/kW_{échangé}$. Les deux traitements présentent effectivement des coûts similaires malgré les fonctionnements différents.

Tableau 29 : Coût d'application des traitements (a) pour le dioxyde de chlore et (b) pour le couplage H_2O_2/UV lors de l'étude menée au CG38

(a) ClO_2		**Prix unitaire ou Durée**	**Quantité**	**Prix (HT)**
Réactifs	Chlorite de sodium	1 €/kg	40 kg	40 €
	Acide chlorhydrique	1 €/kg	40 kg	40 €
Consommables	Maintenance pompe	-	4 unités	54 €
Electricité 0,11 €/kWh	Securox : 50W	3744 heures	187 kWh	21 €
			Coût de fonctionnement total	**155€**

(b) H_2O_2/UV		**Prix unitaire ou Durée**	**Quantité**	**Prix (HT)**
Réactifs	H_2O_2 50%	0,35 €/kg	23 kg	8 €
Consommables	Maintenance pompe	3,75€/unité	14 unités	53 €
Electricité 0,11 €/kWh	UV : 2 x 55 W	3960 heures	285 kWh	47 €
	Pompe péristaltique : 45 W	3960 heures	178 kWh	20 €
			Coût de fonctionnement total	**128€**

Les traitements usuellement appliqués au Conseil général de l'Isère – DBNPA et isothiazolone (biocides A-CID OB et A-CID SAD) en traitements chocs deux fois par semaine sur chaque TAR (année 2010) – conduisent à un coût de fonctionnement de 225 €HT par tour traitée. L'application du couplage H_2O_2/UV et du dioxyde de chlore semblent donc compétitifs vis-à-vis de ces traitements. Il faut néanmoins souligner que dans le cas du traitement au dioxyde de chlore, le coût de fonctionnement est certainement surestimé car la fuite au niveau du bassin de rétention a très certainement conduit à une consommation plus importante du réactif. Cette étude doit donc être complétée et affinée avec la part liée aux investissements afin de pouvoir, par la suite, étudier les coûts effectifs de ces deux traitements.

V. Conclusion

D'une manière générale, les traitements au dioxyde de chlore et par le couplage H_2O_2/UV ont montré de bonnes performances quant à la désinfection de l'eau des tours aéroréfrigérantes. Il a pu être mis en évidence le contrôle de chacun de ces procédés par un descripteur de suivi distinct : les bactéries totales dans le cas du couplage H_2O_2/UV, les bactéries cultivables dans le cas du dioxyde de chlore. Ce dernier paramètre présente l'avantage d'être suivi sur ce site d'étude alors qu'il ne s'agit pas d'une analyse réglementaire. Pour ces deux traitements, la formation des biofilms dans les tours

aéroréfrigérantes est maîtrisée et aucune légionelle cultivable n'a été détectée au cours de cette campagne d'essais. La mise en place de ces traitements nécessite cependant de contrôler la présence d'un résiduel d'oxydant afin d'éviter un développement bactérien excessif. Ce contrôle est d'autant plus important pour le couplage H_2O_2/UV afin d'éviter l'adaptation des bactéries au peroxyde d'hydrogène, nécessitant alors des doses de traitement importantes. Les travaux réalisés dans cette étude montrent qu'il ne faut pas descendre en dessous d'une concentration résiduelle de 10 $mg.L^{-1}$ en peroxyde d'hydrogène.

Malgré l'utilisation de concentrations plus élevées, l'impact environnemental du couplage H_2O_2/UV sera limité car le peroxyde d'hydrogène est un oxydant qui ne génère pas de composés indésirables. A l'issue de sa réaction, il se décompose en eau et en oxygène, et son action sur la matrice carbonée de l'eau en présence d'UV conduit à une oxydation plus ou moins avancée du carbone organique sans produire de composés toxiques (AOX, THM…).

Actuellement, les deux procédés étudiés (H_2O_2/UV et dioxyde de chlore) ne sont pas ou peu utilisés dans le traitement de désinfection de l'eau des tours aéroréfrigérantes malgré leurs propriétés bactéricides. Les premiers résultats obtenus sur les tours du Conseil général de l'Isère laissent penser que ces deux procédés peuvent avoir un avenir prometteur dans le traitement des eaux de refroidissement.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Ces travaux ont eu pour but d'étudier le procédé d'oxydation avancée H_2O_2/UV en tant que méthode de désinfection des eaux de refroidissement des tours aéroréfrigérantes. L'application du traitement s'est orientée vers un fonctionnement continu des ultraviolets et le maintien d'un résiduel constant en peroxyde d'hydrogène.

Dans un premier temps, la réalisation d'un pilote de laboratoire – représentant le bassin de rétention d'une tour aéroréfrigérante – a permis de tester les traitements UV seuls, peroxyde d'hydrogène seul et le couplage de ces deux techniques. Il a ainsi pu être appliqué différentes concentrations en peroxyde d'hydrogène (10, 30 et 50 $mg.L^{-1}$) avec une dose UV comprise entre 10 et 22 $J.cm^{-2}$. Pour plus de commodités, ces traitements ont été réalisés sur une eau reconstituée, chargée en microorganismes (obtenus par des biofilms environnementaux) et en matière organique (mélange de tryptone et acides humiques). La caractérisation de l'efficacité de désinfection obtenue s'est donc appuyée sur l'analyse de paramètres microbiologiques (ATP, bactéries cultivables et bactéries totales, légionelles), mais aussi de la matière organique (COD, COT, biodégradabilité, spectres UV-Visible et de fluorescence).

En termes d'efficacité de désinfection, le traitement H_2O_2/UV a montré qu'il conciliait les avantages de chaque technique prise individuellement, tout en s'affranchissant de leurs inconvénients. Bien que les ultraviolets soient reconnus comme efficaces sur l'eau circulante et malgré une dose d'application importante de 16 $J.cm^{-2}$, la faible transmittance du milieu (40% environ – liée aux acides humiques présents) n'a pas permis l'abattement attendu sur les paramètres microbiologiques de l'eau et des biofilms lors de leur application seule. Il s'avère que ce traitement n'est pas adapté pour cette eau chargée en matière organique et la présence des biofilms joue nettement en sa défaveur. Le peroxyde d'hydrogène (30 et 50 $mg.L^{-1}$), quant à lui en l'utilisant seul, a montré son efficacité sur les biofilms avec des abattements nets sur l'ensemble des paramètres microbiologiques. Cependant, aucun effet n'a été observé sur l'eau circulante. Cette efficacité reste donc limitée et nécessiterait des doses bien plus importantes (> 100 $mg.L^{-1}$) pour obtenir de bonnes performances et limiter l'adaptation des bactéries. Par contre, l'application couplée de ces deux techniques – H_2O_2/UV – a conduit à une désinfection rapide de l'eau avec des abattements supérieurs à 95% pour l'ATP, à 98% pour les bactéries cultivables et à 75% pour les bactéries totales, quelle que soit la concentration en peroxyde d'hydrogène appliquée. L'élimination partielle des biofilms a également été conséquente et n'a pas montré de signe de reviviscence avec le maintien d'abattements supérieurs à 55% pour l'ATP, à 99% pour les bactéries cultivables et à 90% pour les bactéries totales. Ces efficacités sur les biofilms sont davantage liées à la concentration en peroxyde d'hydrogène : une concentration plus importante a permis d'obtenir un meilleur abattement. La complémentarité des deux techniques est donc retrouvée, mais est surtout améliorée.

Au niveau de la matière organique (mélange de tryptone et acides humiques), il a été mis en évidence une modification liée à la présence des microorganismes lors de la phase d'ensemencement du pilote (absence de traitement), avec l'apparition d'une zone caractéristique des sous-produits microbiens solubles visible sur les spectres de

fluorescence. Les traitements UV et H_2O_2 n'ont montré aucune modification dans la structure chimique de la matière organique. Par contre, l'application du couplage H_2O_2/UV a conduit à une modification profonde de la matière organique, se traduisant par une amélioration de la biodégradabilité du milieu, des changements conséquents dans les spectres UV-Visible et de fluorescence (perte de l'aromaticité et de la couleur), et finalement par une minéralisation importante. Les faibles teneurs en carbone organique ainsi retrouvées dans le milieu ont limité sa disponibilité vis-à-vis des microorganismes et ont permis de maintenir une efficacité de désinfection.

Cependant, malgré l'ensemble de ces résultats prometteurs dans l'utilisation du couplage H_2O_2/UV, un inconvénient important lié au peroxyde d'hydrogène a été mis en évidence. En effet, les essais réalisés avec du peroxyde d'hydrogène seul ont montré la mise en place d'une adaptation des bactéries, neutralisant – par le biais d'enzymes – cet oxydant, qui n'a alors plus les effets escomptés. Il s'en est alors suivi une consommation accrue de peroxyde d'hydrogène. Cette adaptation n'a pas été observée avec le couplage H_2O_2/UV lorsque la concentration en peroxyde d'hydrogène est suffisante dans le milieu (30 $mg.L^{-1}$). Cependant elle a pu être remarquée lorsque la génération de radicaux n'est pas suffisante. De tels résultats ont ainsi montré la nécessité de maintenir un résiduel en peroxyde d'hydrogène conséquent afin d'obtenir une photolyse suffisante dans le système et d'éviter toute dérive qui pourrait conduire à un développement bactérien. Suite à ce travail, il semblerait que cette dose soit de 20 à 30 $mg.L^{-1}$ environ.

De plus, l'étude plus particulière menée sur des produits de conditionnement utilisés en tant qu'antitartre et anticorrosion sur les tours aéroréfrigérantes a montré que le couplage H_2O_2/UV pouvait effectivement dégrader les structures carbonées des inhibiteurs (phosphonates, polycarboxylate de zinc) via les radicaux hydroxyles formés. Malgré tout, les agents actifs de ces additifs n'ont pas été totalement dégradés par le traitement, ce qui a permis de maintenir une concentration dans le milieu et donc leurs effets inhibiteurs.

Dans un deuxième temps, et vu les résultats encourageants de l'étude menée en laboratoire, le couplage H_2O_2/UV a été appliqué sur une tour aéroréfrigérante. Bien que les essais sur pilote aient conduit à la définition de doses optimales de traitement de 30 $mg.L^{-1}$ de peroxyde d'hydrogène et d'une dose UV de 14 $J.cm^{-2}$, ces valeurs ont pu être abaissées sur ce système grâce à une meilleure qualité de l'eau. Sur cette tour aéroréfrigérante, le couplage a montré de bonnes performances de désinfection, tout comme le dioxyde de chlore auquel il était comparé. Cette étude sur site a permis de mettre en avant le descripteur des bactéries totales présentes dans l'eau comme paramètre de suivi de ce traitement car donnant le plus d'informations sur l'état microbiologique de la tour. En effet, le couplage H_2O_2/UV a permis de montrer une perte de cultivabilité importante des bactéries et un développement limité et contrôlé des biofilms. Cette étude a également confirmé l'obligation de maintenir un résiduel en peroxyde d'hydrogène afin d'éviter l'adaptation des bactéries, qui a également pu être observée sur la tour. Concernant le produit de conditionnement employé (A-REF 610), il s'avère que l'injection régulière de ce produit avec l'eau d'appoint a permis de maintenir les teneurs recommandées, permettant un maintien de son efficacité.

Sur l'ensemble de ces travaux, aucune légionelle n'a été décelée, aussi bien sur les essais menés en laboratoire que sur la tour aéroréfrigérante. Dans le cadre de l'étude en laboratoire – malgré l'utilisation d'une source connue pour être contaminée par les légionelles – aucune n'a été retrouvée sur le pilote suite à la phase d'ensemencement réalisée grâce aux biofilms développés dans cette source. Au sein de la tour aéroréfrigérante, aucune légionelle cultivable n'a été détectée sur toute la campagne d'essais réalisée, aussi bien dans l'eau que dans les biofilms. Il ne peut donc pas être conclu à une maîtrise du risque Légionelles par le couplage H_2O_2/UV à cause de ce manque d'ensemencement par ces bactéries. Malgré tout, au sein de la tour aéroréfrigérante, aucun développement de la bactérie n'est observé alors que leur présence a été mise en avant par les analyses PCR.

Ces travaux montrent donc de bons résultats de désinfection des eaux de refroidissement des tours aéroréfrigérantes par le couplage H_2O_2/UV. Quelques recommandations sur l'utilisation du peroxyde d'hydrogène découlent de cette étude : le maintien d'un résiduel afin d'éviter une adaptation des bactéries, l'utilisation d'une concentration supérieure à 10 $mg.L^{-1}$ et son suivi régulier afin de prévenir toute dérive du système. Le contrôle du maintien des produits de conditionnement utilisés dans l'eau des tours aéroréfrigérantes est également nécessaire afin d'éviter la mise en place de phénomènes de corrosion et/ou d'entartrage qui pourraient avoir des conséquences désastreuses sur le système (perte d'efficacité du traitement, perforation des parois de la tour…). Malgré tout, le traitement des eaux de refroidissement par le couplage H_2O_2/UV, en plus de son efficacité prouvée, s'avère avoir un impact environnemental limité puisque le peroxyde d'hydrogène ne génère pas de composés indésirables : décomposition en eau et oxygène et oxydation de la matrice carbonée en présence d'UV sans production de composés toxiques (AOX, THM…). L'application sur une tour aéroréfrigérante montre également des coûts de fonctionnement qui semblent compétitifs vis-à-vis des traitements habituellement appliqués.

L'absence de légionelles lors de ces travaux met en avant le manque d'informations sur la réelle efficacité du couplage sur ces bactéries. La réalisation d'essais avec présence de légionelles et réensemencement continuel du système avec cette bactérie (similaire aux ajouts de matière organique réalisés lors des essais sur le pilote de laboratoire) permettrait ainsi de connaître la maîtrise ou non du risque Légionelles par le couplage H_2O_2/UV. Cependant, *Legionella* est une bactérie très sensible à l'irradiation UV : elle est éradiquée dès l'application de très faibles doses (efficacité obtenue sur *Legionella pneumophila* dès 2,0 $mJ.cm^{-2}$). Ainsi, même si le couplage H_2O_2/UV n'a pas été testé, il semble donc peu probable de retrouver des légionelles dans l'eau lors de l'application du traitement couplé, limitant ainsi ce risque Légionelles.

D'une manière plus appliquée, ces travaux étant les premiers essais réalisés sur une tour aéroréfrigérante, il sera nécessaire d'étudier l'efficacité d'un tel traitement sur des TAR de différentes capacités. Les résultats obtenus lors de ces travaux pourraient alors être validés et de telles études complémentaires permettraient de définir les conditions limites d'application du couplage H_2O_2/UV selon la taille de la tour. De plus, le développement d'un suivi en ligne du peroxyde d'hydrogène s'avère être une nécessité. Un tel asservissement permettrait ainsi de pouvoir prévenir la mise en place de

l'adaptation des bactéries et donc de limiter toute dérive du système. Enfin, à terme, les coûts d'investissement et de fonctionnement devront être définis afin de savoir si un tel traitement trouve sa place sur le marché.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Aieta, E.M. et Berg, J.D. (1986). "A review of chlorine dioxide in drinking water treatment." *Journal - American Water Works Association* 78 (6): 62-72.

Alasri, A.; Moal, J.F.; Roques, C.; Michel, G.; Cabassud, C. et Aptel, P. (1992). "Désinfection d'un biofilm mixte : efficacité comparée du chlore, du formol, de l'acide peracétique, du peroxyde d'hydrogène et de l'association acide peracétique/peroxyde d'hydrogène." *Sciences et Techniques de l'Eau* 25 (4): 461-467.

Aleboyeh, A.; Aleboyeh, H. et Moussa, Y. (2003). "Decolorisation of Acid Blue 74 by ultraviolet/H_2O_2." *Environmental Chemistry Letters* 1 (3): 161-164.

Alleron, L.; Merlet, N.; Lacombe, C. et Frère, J. (2008). "Long-Term Survival of *Legionella pneumophila* in the Viable But Nonculturable State After Monochloramine Treatment." *Current Microbiology* 57 (5): 497-502.

Allinger, H. (1975). "Ultrasonic disruption." *American Laboratory* 10 (7): 75-85.

An, J.H. et Blackwell, T.K. (2003). "SKN-1 links *C.elegans* mesendodermal specification to a conserved oxidative stress response." *Genes & Development* 17 (15): 1882-1893.

Antopol, S.C. et Ellner, P.D. (1979). "Susceptibility of *Legionella pneumophila* to Ultraviolet Radiation." *Appl. Environ. Microbiol.* 38 (2): 347-348.

Aquarama. (**2009**). "Installation Coolzon®". from http://www.aquarama.be/Faqua/Farchief/Fpdfs/F44/AQ44FR%2073_82.pdf.

Atlas, R.M. et Bartha, R. (1986). "Microbial ecology: Fundamentals and applications". Menlo Park, California, The Benjamin/Cummings Publishing Company.

Attwood, D. et Florence, A.T. (1983). "Surfactant systems: their chemistry, pharmacy and biology". Chapman and Hall Ltd. London.

Audenaert, W.T.M.; Vermeersch, Y.; Van Hulle, S.W.H.; Dejans, P.; Dumoulin, A. et Nopens, I. (2011). "Application of a mechanistic UV/hydrogen peroxide model at full-scale: Sensitivity analysis, calibration and performance evaluation." *Chemical Engineering Journal* 171 (1): 113-126.

Ayyildiz, O.; Ileri, B. et Sanik, S. (2009). "Impacts of water organic load on chlorine dioxide disinfection efficacy." *Journal of Hazardous Materials* 168 (2-3): 1092-1097.

Backlund, P. (1992). "Degradation of aquatic humic material by ultraviolet light." *Chemosphere* 25 (12): 1869-1878.

Baig, S. et Mouchet, P. (2010). "Oxydation et réduction appliquées au traitement de l'eau - Ozone - Autres oxydants - Oxydation avancée - Réducteurs." *Techniques de l'ingénieur* W2702.

Barbaree, J.M. (1991). "Controlling *Legionella* in cooling towers." *ASHRAE journal* 33 (6): 38-42.

Barbaree, J.M.; Fields, B.S.; Feeley, J.C.; Gorman, G.W. et Martin, W.T. (1986). "Isolation of protozoa from water associated with a legionellosis outbreak and demonstration of intracellular multiplication of *Legionella pneumophila*." *Applied and Environmental Microbiology* 51 (2): 422-424.

Barbeau, B.; Desjardins, R.; Mysore, C. et Prévost, M. (2005). "Impacts of water quality on chlorine and chlorine dioxide efficacy in natural waters." *Water Research* 39 (10): 2024-2033.

Barker, J.; Brown, M.R.; Collier, P.J.; Farrell, I. et Gilbert, P. (1992). "Relationship between *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba polyphaga*: physiological status and susceptibility to chemical inactivation." *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (8): 2420-2425.

Baxendale, J.H. et Wilson, J.A. (1957). "The photolysis of hydrogen peroxide at high light intensities." *Transactions of the Faraday Society* 53: 344-356.

Bayliss, C.E. et Waites, W.M. (1979). "The Combined Effect of Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Irradiation on Bacterial Spores." *Journal of Applied Microbiology* 47 (2): 263-269.

Bedulivich, T.S.; Svetlakova, M.N. et Trakhtman, N.N. (1954). "Use of Chlorine Dioxide in Purification of Water." *Chemical Abstracts* 48: 2953.

Ben Amor, H.; de Laat, J. et Doré, M. (1988). "Incidence de la préoxydation par ClO_2 sur le potentiel de formation des composes organohalogénés", Taylor & Francis. 9**:** 1105-1114.

Ben Amor, H.; Laat, J.D. et Doré, M. (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." *Water Research* 18 (12): 1545-1560.

Benarde, M.A.; Snow, W.B.; Olivieri, V.P. et Davidson, B. (1967). "Kinetics and Mechanism of Bacterial Disinfection by Chlorine Dioxide." *Appl. Environ. Microbiol.* 15 (2): 257-265.

Béranger, G. et Mazille, H. (2002). "Corrosion et anticorrosion : pratique industrielle". Hermès - Lavoisier.

Bergmann, H. et Koparal, S. (2005). "The formation of chlorine dioxide in the electrochemical treatment of drinking water for disinfection." *Electrochimica Acta* 50 (25-26): 5218-5228.

Berk, S.G.; Gunderson, J.H.; Newsome, A.L.; Farone, A.L.; Hayes, B.J.; Redding, K.S.; Uddin, N.; Williams, E.L.; Johnson, R.A.; Farsian, M.; Reid, A.; Skimmyhorn, J. et Farone, M.B. (2006). "Occurrence of Infected *Amoebae* in Cooling Towers Compared with Natural Aquatic Environments: Implications for Emerging Pathogens " *Environmental Science & Technology* 40 (23): 7440-7444.

Bernhardt, H. (1994). "Desinfektion aufbereiteter Oberflächenwässers mit UV Strahlen." *GWF Wasser-Abwasser* 135 (12): 677-689.

Berson, J.-J. et Sachoux, P. (1985). "Stérilisation d'eau par rayons ultraviolets : lampes haute pression ou basse pression ?" *L'Eau, l'industrie, les nuisances* 94: 55-58.

Blanc, D.S.; Carrara, P.; Zanetti, G. et Francioli, P. (2005). "Water disinfection with ozone, copper and silver ions, and temperature increase to control *Legionella*: seven years of experience in a university teaching hospital." *Journal of Hospital Infection* 60 (1): 69-72.

Block, S.S. (1991). "Peroxygen compounds". *Disinfection, sterilization, and preservation, 4. Edition*, Phildelphia, Lea and Febiger**:** 167-181.

Boles, B.R. et Singh, P.K. (2008). "Endogenous oxidative stress produces diversity and adaptability in biofilm communities." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105 (34): 12503-12508.

Boles, B.R.; Thoendel, M. et Singh, P.K. (2004). "Self-generated diversity produces "insurance effects" in biofilm communities." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101 (47): 16630-16635.

Borella, P.; Guerrieri, E.; Marchesi, I.; Bondi, M.; Messi, P. et El-Gewely, M.R. (2005). "Water ecology of *Legionella* and protozoan: environmental and public health perspectives". *Biotechnology Annual Review*, Elsevier, Volume 11**:** 355-380.

Bott, T.R. (1998). "Techniques for reducing the amount of biocide necessary to counteract the effects of biofilm growth in cooling water systems." *Applied Thermal Engineering* 18 (11): 1059-1066.

Botzenhart, K.; Tarcson, G.M. et Ostruschka, M. (1993). "Inactivation of Bacteria and Coliphages by Ozone and Chlorine Dioxide in a Continuous Flow Reactor." *Water Science and Technology* 27 (3/4): 363-370.

Boucher, R.M.G. (1970). "Sonochemistry at low and high ultrasonic frequencies." *British Chemical Engineering* 15 (3): 363-367.

Branda, S.S.; Vik, A.; Friedman, L. et Kolter, R. (2005). "Biofilms: the matrix revisited." *Trends in Microbiology* 13 (1): 20-26.

Bridier, A.; Briandet, R.; Thomas, V. et Dubois-Brissonnet, F. (2011). "Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review." *Biofouling* 27 (9): 1017-1032.

Broadbent, C.R. (1993). "*Legionella* in cooling towers: practical research, design, treatment, and control guidelines". *Legionella : current status and emerging perspectives*. James M. Barbaree, Robert F. Breiman et Alfred P. Dufour, Washington, DC, American Society for Microbiology**:** 217-222.

Broekman, S.; Pohlmann, O.; Beardwood, E.S. et de Meulenaer, E.C. (2010). "Ultrasonic treatment for microbiological control of water systems." *Ultrasonics Sonochemistry* 17 (6): 1041-1048.

Brözel, V.S. et Cloete, T.E. (1991). "Fingerprinting of commercially available water treatment bactericides in South Africa." *Water Research SA* 17 (1): 57-66.

Brözel, V.S. et Cloete, T.E. (1993). "Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* to 2,2'-methylenebis (4-chlorophenol)." *Journal of Applied Microbiology* 74 (1): 94-99.

Brundrett, G.W. (2003). "Preventing Legionellosis: is your action plan completed?" *Facilities* 21: 275-279.

Buchanan, W.; Roddick, F.; Porter, N. et Drikas, M. (2004). "Enhanced biodegradability of UV and VUV pre-treated natural organic matter." *Water Supply* 4 (4): 103-111.

Buxton, G.V.; Greenstock, C.L.; Helman, W.P. et Ross, A.B. (1988). "Critical review of rate constants for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals (•OH/•O−) in aqueous solution." *Journal of physical and chemical reference data* 17 (2): 513-886.

Byrne, B. et Swanson, M.S. (1998). "Expression of *Legionella Pneumophila* - Virulence Traits in Response to Growth Conditions." *Infection and Immunity* 66 (7): 3029-3034.

Cai, H. (2005). "Hydrogen peroxide regulation of endothelial function: Origins, mechanisms, and consequences." *Cardiovascular Research* 68 (1): 26-36.

Campèse, C.; Jarraud, S.; Maine, C. et Che, D. (2011). "La légionellose en France : augmentation du nombre de cas en 2010." *Bulletin épidémiologique hebdomadaire* 29-30: 325-327.

Campos, C.; Loret, J.F.; Cooper, A.J. et Kelly, R.F. (2003). "Disinfection of domestic water systems for *Legionella pneumophila*." *Journal of water supply : research and technology. AQUA* 52 (5): 341-354.

Carpenter, J.F. (2006). "Treatment for hydrostatic testing water". Patent: WO/2006/043948.

Cazalet, C.; Rusniok, C.; Brüggemann, H.; Zidane, N.; Magnier, A.; Ma, L.; Tichit, M.; Jarraud, S.; Bouchier, C.; Vandenesch, F.; Kunst, F.; Etienne, J.; Glaser, P. et Buchrieser, C. (2004). "Evidence in the *Legionella pneumophila* genome for exploitation of host cell functions and high genome plasticity." *Nature Genetics 36, 1165 - 1173 (2004)* 36 (11): 1165-1173.

Chang, C.-Y.; Hsieh, Y.-H.; Hsu, S.-S.; Hu, P.-Y. et Wang, K.-H. (2000). "The formation of disinfection by-products in water treated with chlorine dioxide." *Journal of Hazardous Materials* 79 (1-2): 89-102.

Characklis, W.G. (1990). "Microbial fouling". *Biofilms*. W.G. Characklis et K.C. Marshall (eds.), New york, John Wiley**:** 523-584.

Chen, J.; LeBoeuf, E.J.; Dai, S. et Gu, B. (2003). "Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions." *Chemosphere* 50 (5): 639-647.

Chen, P.-J.; Rosenfeldt, E.J.; Kullman, S.W.; Hinton, D.E. et Linden, K.G. (2007). "Biological assessments of a mixture of endocrine disruptors at environmentally relevant concentrations in water following UV/H_2O_2 oxidation." *Science of The Total Environment* 376 (1-3): 18-26.

Chen, S.-N. et Hoffman, M.Z. (1974). "Reactivity of the carbonate radical in aqueous solution. Tryptophan and its derivatives." *The Journal of Physical Chemistry* 78 (21): 2099-2102.

Chen, X. et Stewart, P.S. (1996). "Chlorine Penetration into Artificial Biofilm Is Limited by a Reaction Diffusion Interaction." *Environmental Science & Technology* 30 (6): 2078.

Chen, Y.S.R.; Sproul, O.J. et Rubin, A.J. (1985). "Inactivation of *Naegleria gruberi* cysts by chlorine dioxide." *Water Research* 19 (6): 783-789.

Chick, H. (1908). "An Investigation of the Laws of Disinfection." *The Journal of Hygiene* 8 (1): 92-158.

Chin, A. et Bérubé, P.R. (2005). "Removal of disinfection by-product precursors with ozone-UV advanced oxidation process." *Water Research* 39 (10): 2136-2144.

Chin, Y.-P.; Aiken, G. et O'Loughlin, E. (1994). "Molecular Weight, Polydispersity, and Spectroscopic Properties of Aquatic Humic Substances." *Environmental Science & Technology* 28 (11): 1853-1858.

Cho, M.; Chung, H. et Yoon, J. (2003). "Disinfection of Water Containing Natural Organic Matter by Using Ozone-Initiated Radical Reactions." *Appl. Environ. Microbiol.* 69 (4): 2284-2291.

Christensen, B.E. et Characklis, W.G. (1990). "Physical and chemical properties of biofilms". *Biofilms*. Characklis WG & Marshall KC, New York, John Wiley and Sons.

Christensen, B.E.; Tronnes, H.N.; Vollan, K.; Smidsrod, O. et Bakke, R. (1990). "Biofilm removal by low concentrations of hydrogen peroxide." *Biofouling* 2 (2): 165-175.

Cloete, T.E.; Brözel, V.S. et Von Holy, A. (1992). "Pratical aspects of biofouling control in industrial water systems." *International biodeterioration & biodegradation* 29 (3-4): 299-341.

Cloete, T.E.; Jacobs, L. et Brözel, V.S. (1998). "The chemical control of biofouling in industrial water systems." *Biodegradation* 9: 23-37.

Cochran, W.L.; McFeters, G.A. et Stewart, P.S. (2000). "Reduced susceptibility of thin *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to hydrogen peroxide and monochloramine." *Journal of Applied Microbiology* 88 (1): 22-30.

Collier, P.J.; Austin, P. et Gilbert, P. (1991). "Isothiazolone biocides : enzyme-inhibiting pro-drugs." *International journal of pharmaceutics* 74 (2-3): 195-201.

Corin, N.; Backlund, P. et Kulovaara, M. (1996). "Degradation products formed during UV-irradiation of humic waters." *Chemosphere* 33 (2): 245-255.

Corin, N.; Backlund, P. et Wiklund, T. (1998). "Bacterial growth in humic waters exposed to UV-radiation and simulated sunlight." *Chemosphere* 36 (9): 1947-1958.

Cornillon, P.-A.; Guyard, A.; Husson, F.; Jégou, N.; Josse, J.; Kloareg, M.; Matzner-Lober, E. et Rouvière, L. (2008). "Statistiques avec R". Pratique de la statistique - Presses universitaires de Rennes.

Costerton, J.W. (2007). "The biofilm primer". Springer. Berlin Heidelberg New-York.

Costerton, J.W.; Cheng, K.J.; Geesey, G.G.; Ladd, T.I.; Nickel, J.C.; Dasgupta, M. et Marrie, T.J. (1987). "Bacterial Biofilms in Nature and Disease." *Annual Review of Microbiology* 41 (1): 435-464.

Coulon, C.; Collignon, A.; McDonnell, G. et Thomas, V. (2010). "Resistance of *Acanthamoeba* Cysts to Disinfection Treatments Used in Health Care Settings." *Journal of Clinical Microbiology* 48 (8): 2689-2697.

Coyle, J.T. et Puttfarcken, P. (1993). "Oxidative stress, glutamate, and neurodegenerative disorders." *Science* 262 (5134): 689-695.

Cunliffe, D.A. (1990). "Inactivation of *Legionella pneumophila* by monochloramine." *Journal of Applied Microbiology* 68 (5): 453-459.

Dabrowska, A.; Swietlik, J. et Nawrocki, J. (2003). "Formation of aldehydes upon ClO_2 disinfection." *Water Research* 37 (5): 1161-1169.

Davidson, P.M. et Branen, A.L. (1993). "Antimicrobials in foods". New York (USA), M. Dekker.

De Beer, D.; Srinivasan, R. et Stewart, P.S. (1994). "Direct measurement of chlorine penetration into biofilms during disinfection." *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (12): 4339-4344.

Declerck, P.; Vanysacker, L.; Hulsmans, A.; Lambert, N.; Liers, S. et Ollevier, F. (2010). "Evaluation of power ultrasound for disinfection of both *Legionella pneumophila* and its environmental host *Acanthamoeba castellanii*." *Water Research* 44 (3): 703-710.

Dehon, C.; Doroesbeke, J.-J. et Vermandele, C. (2008). "Elements de statistique ". Editions de l'Université de Bruxelles - Editions Ellipses.

Desai, R.; Welsh, C.; Summy, M.; Farone, M. et Newsome, A.L. (1999). "The potential of in situ hybridization and an immunogold assay to identify *Legionella* associations with other microorganisms." *Journal of Microbiological Methods* 37 (2): 155-164.

Directive du Parlement Européen et du Conseil (16 février 1998). "Directive n°98/8/CE concernant la mise sur le marché des produits biocides".

Dix, T.A. et Aikens, J. (2002). "Mechanisms and biological relevance of lipid peroxidation initiation." *Chemical Research in Toxicology* 6 (1): 2-18.

Dobson, S. et Cary, R. (2002). "Concise International Chemical Assessment Document 37 - Chlorine Dioxide (gas)". Geneva, Switzerland, World Health Organization. 1-32.

Domingue, E.L.; Tyndall, R.L.; Mayberry, W.R. et Pancorbo, O.C. (1988). "Effects of three oxidizing biocides on *Legionella pneumophila* serogroup 1." *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (3): 741-747.

Donlan, R.; Forster, T.; Murga, R.; Brown, E.; Lucas, C.; Carpenter, J. et Fields, B. (2005). "*Legionella pneumophila* associated with the protozoan *Hartmannella vermiformis* in a model multi-species biofilm has reduced susceptibility to disinfectants." *Biofouling: The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research* 21 (1): 1 - 7.

Donlan, R.M. et Costerton, J.W. (2002). "Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms." *Clinical Microbiology Reviews* 15 (2): 167-193.

Doré, M. (1989). "Chimie des oxydants et traitement des eaux". Tec&Doc Lavoisier. Paris, France.

Drabkova, M.; Admiraal, W. et Marsalek, B. (2007). "Combined Exposure to Hydrogen Peroxide and LightSelective Effects on Cyanobacteria, Green Algae, and Diatoms." *Environmental Science & Technology* 41 (1): 309-314.

Duckhouse, H.; Mason, T.J.; Phull, S.S. et Lorimer, J.P. (2004). "The effect of sonication on microbial disinfection using hypochlorite." *Ultrasonics Sonochemistry* 11 (3-4): 173-176.

Duperron, J.-C. (1999). "Peroxyde d'hydrogène." *Techniques de l'ingénieur* J 6485.

Dupuy, M.; Mazoua, S.; Berne, F.; Bodet, C.; Garrec, N.; Herbelin, P.; Ménard-Szczebara, F.; Oberti, S.; Rodier, M.-H.; Soreau, S.; Wallet, F. et Héchard, Y. (2011). "Efficiency of water disinfectants against *Legionella pneumophila* and *Acanthamoeba*." *Water Research* 45 (3): 1087-1094.

Eisenberg, G. (1943). "Colorimetric Determination of Hydrogen Peroxide." *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition* 15 (5): 327-328.

Elkins, J.G.; Hassett, D.J.; Stewart, P.S.; Schweizer, H.P. et McDermott, T.R. (1999). "Protective Role of Catalase in Pseudomonas aeruginosa Biofilm Resistance to Hydrogen Peroxide." *Applied and Environmental Microbiology* 65 (10): 4594-4600.

Elsemore, R. (1986). "Biocidal Control of *Legionellae*." *Israel Journal of Medical Sciences* 22 (9): 647-654.

Emerick, R. et Darby, J. (1993). "Ultraviolet light disinfection of secondary effluents : predicting performance based on water quality parameters". *Water Environment Federation Specialty Conference : Planing, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems*, Whippany, NJ.

Environmental Protection Agency (1999a). "Guidance Manual : Alternative Disinfectants and Oxidants - Chapter 4: Chlorine Dioxide".

Environmental Protection Agency (1999b). "Guidance Manual : Alternative Disinfectants and Oxidants - Chapter 6: Chloramines".

Exner, M.; Tuschewitzki, G.J. et Scharnagel, J. (1987). "Influence of biofilms by chemical disinfectants and mechanical cleaning." *Zentralblatt fur Bakteriologie, Mikrobiologie und Hygiene. Serie B, Umwelthygiene, Krankenhaushygiene, Arbeitshygiene, praventive Medizin* 183 (5-6): 549-563.

F.W.R. (1995). "Applications of Ultrasonics in the Water Industry", (Foundation for Water Research).

Farhat, M.; Trouilhé, M.-C.; Briand, E.; Moletta-Denat, M.; Robine, E. et Frère, J. (2009). "Development of a pilot-scale 1 for *Legionella* elimination in biofilm in hot

water network: heat shock treatment evaluation." *Journal of Applied Microbiology* 108 (3): 1073-1082.

Farooq, S.; Engelbrecht, R.S. et Chian, S.K. (1977). "The effect of ozone bubbles on disinfection." *Prog. Water Technol* 9: 233-247.

Farr, B.M.; Gratz, J.C.; Tartaglino, J.C.; Getchell-White, S.I. et Gröschell, D.H.M. (1988). "Evaluation of ultraviolet light for disinfection of hospital water contaminated with *legionella*." *Lancet* 2: 669-672.

Fields, B.S. (1996). "The molecular ecology of legionellae." *Trends in Microbiology* 4 (7): 286-290.

Fields, B.S.; Benson, R.F. et Besser, R.E. (2002). "*Legionella* and Legionnaires' Disease: 25 Years of Investigation." *Clin. Microbiol. Rev.* 15 (3): 506-526.

Finch, G.R.; Liyanage, L.R.J. et Belosevic, M. (1995). "Effect of Disinfectants and *Cryptosporidium* and *Giardia*". *Third International Symposium on Chlorine Dioxide: Drinking Water, Process Water, and Wastewater Issues*.

Finn, G.J. et Condon, S. (1975). "Regulation of catalase synthesis in *Salmonella typhimurium*." *Journal of Bacteriology* 123 (2): 570-579.

Fiorenza, S. et Ward, C.H. (1997). "Microbial adaptation to hydrogen peroxide and biodegradation of aromatic hydrocarbons." *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 18 (2): 140-151.

Flannery, B.; Gelling, L.B.; Vugia, D.J.; Weintraub, J.M.; Salerno, J.J.; Conroy, M.J.; Stevens, V.A.; Rose, C.E.; Moore, M.R.; Fields, B.S. et Besser, R.E. (2006). "Reducing *Legionella* Colonization of Water Systems with Monochloramine." *Emerging Infectious Diseases* 12 (4): 588-596.

Flemming, H.-C.; Murthy, P.S.; Venkatesan, R. et Cooksey, K. (2009). "Why Microorganisms Live in Biofilms and the Problem of Biofouling". *Marine and Industrial Biofouling*, Springer Berlin Heidelberg, 4**:** 3-12.

Foreman, J.; Demidchik, V.; Bothwell, J.H.F.; Mylona, P.; Miedema, H.; Torres, M.A.; Linstead, P.; Costa, S.; Brownlee, C.; Jones, J.D.G.; Davies, J.M. et Dolan, L. (2003). "Reactive oxygen species produced by NADPH oxidase regulate plant cell growth." *Nature* 422 (6930): 442-446.

Franzin, L.; Cabodi, D. et Fantino, C. (2002). "Evaluation of the efficacy of ultraviolet irradiation for disinfection of hospital water contaminated by *Legionella*." *Journal of Hospital Infection* 51 (4): 269-274.

Fridovich, I. (1978). "The biology of oxygen radicals." *Science* 201 (4359): 875-880.

Friedberg, E.R.; Walker, G.C. et Siede, W. (1995). "DNA Repair by Reversal of Damage". *DNA repair and mutagenesis*, Washington, DC, ASM Press**:** 92-107.

Gagnon, G.A.; Rand, J.L.; O'Leary, K.C.; Rygel, A.C.; Chauret, C. et Andrews, R.C. (2005). "Disinfectant efficacy of chlorite and chlorine dioxide in drinking water biofilms." *Water Research* 39 (9): 1809-1817.

Gao, Y.; Zhou, P.; Lin, Y.E.; Vidic, R.D. et Stout, J.E. (2001). "Efficacy of DBNPA against *Legionella pneumophila*: experimental results in a model water system." *ASHRAE* 107 (Part1) (4432).

GE Infrastructure - Water & Process Technologies (2007). "Formation "Circuits de refroidissement" : Corrosion - Inhibiteurs et modes d'action".

Gechev, T.S. et Hille, J. (2005). "Hydrogen peroxide as a signal controlling plant programmed cell death." *The Journal of Cell Biology* 168 (1): 17-20.

Geesey, G.G. (1982). "Microbial exopolymers: Ecological and economic considerations." *American Society for Microbiology News* 48 (1): 9-14.

Geiszt, M.s. et Leto, T.L. (2004). "The Nox Family of NAD(P)H Oxidases: Host Defense and Beyond." *Journal of Biological Chemistry* 279 (50): 51715-51718.

Ghanbari, H.A.; Wheeler, W.B. et Kirk, J.R. (1983). "Reactions of Chlorine and Chlorine Dioxide with Free Fatty Acids , Fatty Acid Esters, and Triglycerides". *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*. Bull J.R. Jolley R.L., Davids W.P., Katz S., Roberts M.H., Jacobs V.A., editors, 4**:** 167-177.

Gilpin, R.W.; Dillon, S.B.; Keyser, P.; Androkites, A.; Berube, M.; Carpendale, N.; Skorina, J.; Hurley, J. et Kaplan, A.M. (1985). "Disinfection of circulating water systems by ultraviolet light and halogenation." *Water Research* 19 (7): 839-848.

Glaze, W.H.; Kang, J.-W. et Chapin, D.H. (1987). "The Chemistry of Water Treatment Processes Involving Ozone, Hydrogen Peroxide and Ultraviolet Radiation." *Ozone: Science & Engineering* 9: 335-352.

Gogate, P.R. et Pandit, A.B. (2004a). "A review of imperative technologies for wastewater treatment I: oxidation technologies at ambient conditions." *Advances in Environmental Research* 8 (3-4): 501-551.

Gogate, P.R. et Pandit, A.B. (2004b). "A review of imperative technologies for wastewater treatment II: hybrid methods." *Advances in Environmental Research* 8 (3â€“4): 553-597.

Gopal, K.; Tripathy, S.S.; Bersillon, J.L. et Dubey, S.P. (2007). "Chlorination byproducts, their toxicodynamics and removal from drinking water." *Journal of Hazardous Materials* 140 (1-2): 1-6.

Gordon, G. (1992). "Water chemistry of the oxy-chlorine species". *Proceedings of the Second International Symposium on Chlorine Dioxide: Drinking Water Issues*, Houston, Texas.

Goroncy-Bermes, P. et Gerresheim, S. (1996). "Wirksamkeit von peroxidhaltigen Wirkstofflösungen gegen Mikroorganismen in Biofilmen = Efficacy of peroxide-containing solutions against microorganisms in biofilms." *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin* 198 (5): 476-477.

Goslan, E.H.; Gurses, F.; Banks, J. et Parsons, S.A. (2006). "An investigation into reservoir NOM reduction by UV photolysis and advanced oxidation processes." *Chemosphere* 65 (7): 1113-1119.

Grace, R.D.; Dewar, N.E.; Barnes, W.G. et Hodges, G.R. (1981). "Susceptibility of *Legionella pneumophila* to three cooling tower microbiocides." *Appl. Environ. Microbiol.* 41 (1): 233-236.

Greenberg, J.T.; Monach, P.; Chou, J.H.; Josephy, P.D. et Demple, B. (1990). "Positive control of a global antioxidant defense regulon activated by superoxide-generating agents in *Escherichia coli*." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 87 (16): 6181-6185.

Gregory, E.M. et Fridovich, I. (1973). "Induction of Superoxide Dismutase by Molecular Oxygen." *Journal of Bacteriology* 114 (2): 543-548.

Greub, G. et Raoult, D. (2003). "Morphology of *Legionella pneumophila* according to their location within *Hartmanella vermiformis*." *Research in Microbiology* 154 (9): 619-621.

Guerrieri, E.; Bondi, M.; Ciancio, C.; Borella, P. et Messi, P. (2005). "Micro- and macromethod assays for the ecological study of *Legionella pneumophila*." *FEMS Microbiology Letters* 252 (1): 113-119.

Guittonneau, S.; de Laat, J.; Doré, M.; Duguet, J.-P. et Bonnel, C. (1988). "Etude de la dégradation de quelques composés organochlorés volatils par photolyse de peroxyde d'hydrogène en milieux aqueux." *Revue des sciences de l'eau* 1 (1-2): 35-54.

Haas, C. (1990). "Disinfection". *Water quality and treatment, A handbook of community water supplies*. FA Pontius, NY : McGraw-Hill, [Chapter 14].

Haber, F. et Weiss, J. (1934). "The Catalytic Decomposition of Hydrogen Peroxide by Iron Salts." *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences* 147 (861): 332-351.

Hall, B.G. (1990). "Spontaneous Point Mutations That Occur More Often When Advantageous Than When Neutral." *Genetics* 126 (1): 5-16.

Hallam, N.B.; West, J.R.; Forster, C.F. et Simms, J. (2001). "The potential for biofilm growth in water distribution systems." *Water Research* 35 (17): 4063-4071.

Halliwell, B. et Gutteridge, J.M. (1984). "Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease." *Biochem. J.* 219 (1): 1-14.

Hamilton, E.; Seal, D.V. et Hay, J. (1996). "Comparison of chlorine and chlorine dioxide disinfection for control of *Legionella* in a hospital potable water supply." *Journal of Hospital Infection* 32 (2): 156-160.

Harm, W. (1980). "Biological effects of ultraviolet radiation". New York : Cambridge University Press**:** 31-39.

Hart, R.A.; Hughes, D.H.; Templet, H.P. et Whitaker, J.M. (1990). "Iron deposition and the effect of water treatment in mitigating suspected MIC failure of 304 stainless steel.". *Microbially Influenced Corrosion and Biodeterioration*, Knoxville, Tennessee.

Hartman, P.S. et Eisenstark, A. (1978). "Synergistic killing of *Escherichia coli* by near-UV radiation and hydrogen peroxide: distinction between recA-repairable and recA-nonrepairable damage." *Journal of Bacteriology* 133 (2): 769-774.

Hassett, D.J.; Ma, J.-F.; Elkins, J.G.; McDermott, T.R.; Ochsner, U.A.; West, S.E.H.; Huang, C.-T.; Fredericks, J.; Burnett, S.; Stewart, P.S.; McFeters, G.; Passador, L. et Iglewski, B.H. (1999). "Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* controls expression of catalase and superoxide dismutase genes and mediates biofilm susceptibility to hydrogen peroxide." *Molecular Microbiology* 34 (5): 1082-1093.

Hautala, K.; Peuravuori, J. et Pihlaja, K. (2000). "Measurement of aquatic humus content by spectroscopic analyses." *Water Research* 34 (1): 246-258.

Havelaar, A.H.; Pot-Hogeboom, W.M.; Koot, W. et Pot, R. (1987). "F-specific bacteriophages as indicators of the disinfection efficiency of secondary effluent with ultraviolet radiation." *Ozone : science & engineering* 9 (4): 353-367.

Heinzel, M. (1988). "The phenomena of resistance of disinfectants and preservatives. ". *Industrial Biocides*. Payne KR, John Wiley and Sons.

Herruzo-Cabrera, R. (2000). "Spanish disinfectant for the 21st century." *Anales de la Real academia Nacional de Medicina (Madrid)* 117 (4): 791-806.

Hijnen, W.A.M.; Beerendonk, E.F. et Medema, G.J. (2006). "Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review." *Water Research* 40 (1): 3-22.

Hoffman, P.S.; Pine, L. et Bell, S. (1983). "Production of superoxide and hydrogen peroxide in medium used to culture Legionella pneumophila: catalytic decomposition by charcoal." *Applied and Environmental Microbiology* 45 (3): 784-791.

Hoffmann, M. (2006). "Ozone in Cooling Towers: Hygiene for Us.". Berlin, Germany.

Hofmann, R.; Andrews, R.C. et Ye, Q. (1997). "Chlorite Formation When Disinfecting Drinking Water to *Giardia* Inactivation Requirements Using Chlorine Dioxide". *ASCE/CSCE Conference*, Edmonton, Alberta.

Hofmann, R.; Andrews, R.C. et Ye, Q. (1999). "Impact of *Giardia* Inactivation Requirements on ClO_2 By-Products." *Environmental technology* 20: 147-158.

Hoigné, J. et Bader, H. (1994). "Kinetics of reactions of chlorine dioxide (OClO) in water - I. Rate constants for inorganic and organic compounds." *Water Research* 28 (1): 45-55.

Howlett, N.G. et Avery, S.V. (1997). "Induction of lipid peroxidation during heavy metal stress in *Saccharomyces cerevisiae* and influence of plasma membrane fatty acid unsaturation." *Applied and environmental microbiology* 63 (8): 2971-2976.

Hoyer, O. (1998). "Testing performance and monitoring of UV systems for drinking water disinfection " *Water Supply* 16 (1/2): 424-429.

Huang, J.; Li, W.; Nanqi, R. et Fang, M. (1997). "Disinfection effect of chlorine dioxide on bacteria in water." *Water Research* 31 (3): 607-613.

Hughes, D.E. et Nyborg, W.L. (1962). "Cell Disruption by Ultrasound: Streaming and other activity around sonically induced bubbles is a cause of damage to living cells." *Science* 138 (3537): 108-114.

Hulsmans, A.; Joris, K.; Lambert, N.; Rediers, H.; Declerck, P.; Delaedt, Y.; Ollevier, F. et Liers, S. (2010). "Evaluation of process parameters of ultrasonic treatment of bacterial suspensions in a pilot scale water disinfection system." *Ultrasonics Sonochemistry* 17 (6): 1004-1009.

Imlay, J. (2008). "Cellular Defenses against Superoxide and Hydrogen Peroxide." *Annual Review of Biochemistry* 77 (1): 755-776.

Imlay, J.; Chin, S. et Linn, S. (1988). "Toxic DNA damage by hydrogen peroxide through the Fenton reaction in vivo and in vitro." *Science* 240 (4852): 640-642.

Imlay, J.A. et Linn, S. (1987). "Mutagenesis and stress responses induced in *Escherichia coli* by hydrogen peroxide." *Journal of Bacteriology* 169 (7): 2967-2976.

Inoue, H.; Hisamoto, N.; An, J.H.; Oliveira, R.P.; Nishida, E.; Blackwell, T.K. et Matsumoto, K. (2005). "The *C. elegans* p38 MAPK pathway regulates nuclear localization of the transcription factor SKN-1 in oxidative stress response." *Genes & Development* 19 (19): 2278-2283.

Institut français de l'environnement (2006). "L'environnement en France - Edition 2006". L'eau.

Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques (2006). "Aide pour l'élaboration d'un plan de surveillance des installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air (rubrique n°2921) pour le risque de prolifération des légionelles". Verneuil-en-Halatte, Oise**:** http://www.picardie.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/Guide_surveillance_cle5c21a25.pdf.

Izawa, S.; Inoue, Y. et Kimura, A. (1996). "Importance of catalase in the adaptive response to hydrogen peroxide: analysis of acatalasaemic Saccharomyces cerevisiae." *The Biochemical journal* 320 (Pt 1): 61-67.

Jagger, J. (1967). "Introduction to Research in Ultraviolet Photobiology". Englewood Cliffs, NJ, Prentice-Hall, Inc.

Jagger, J. (1981). "Near-UV radiation effects on microorganisms." *Photochemistry and Photobiology* 34 (6): 761-768.

Jamieson, D.J. (1998). "Oxidative stress responses of the yeast *Saccharomyces cerevisiae*." *Yeast* 14 (16): 1511-1527.

Jepson, J.D. (1973). "Disinfection of water supplies by ultraviolet radiation." *Water Treatment and Examination* 22: 175-193.

Johnson, C.H. (1929). "The lethal effects of ultrasonic radiation." *J Physiol* 67 (4): 356-359.

Joly, P.; Falconnet, P.-A.; André, J.; Weill, N.; Reyrolle, M.; Vandenesch, F.; Maurin, M.; Etienne, J. et Jarraud, S. (2006). "Quantitative Real-Time *Legionella* PCR for Environmental Water Samples: Data Interpretation." *Applied and Environmental Microbiology* 72 (4): 2801-2808.

Joyce, E.; Mason, T.J.; Phull, S.S. et Lorimer, J.P. (2003a). "The development and evaluation of electrolysis in conjunction with power ultrasound for the disinfection of bacterial suspensions." *Ultrasonics Sonochemistry* 10 (4-5): 231-234.

Joyce, E.; Phull, S.S.; Lorimer, J.P. et Mason, T.J. (2003b). "The development and evaluation of ultrasound for the treatment of bacterial suspensions. A study of frequency, power and sonication time on cultured *Bacillus* species." *Ultrasonics Sonochemistry* 10 (6): 315-318.

Junli, H.; Li, W.; Nenqi, R.; Li, L.X.; Fun, S.R. et Guanle, Y. (1997). "Disinfection effect of chlorine dioxide on viruses, algae and animal planktons in water." *Water Research* 31 (3): 455-460.

Juven, B.J. et Pierson, M.D. (1996). "Antibacterial Effects of Hydrogen Peroxide and Methods for Its Detection and Quantitation." *Journal of Food Protection* 59: 1233-1241.

Karpel Vel Leitner, N.; De Laat, J. et Doré, M. (1992). "Photodécomposition du bioxyde de chlore et des ions chlorite par irradiation UV en milieu aqueux (partie I et II)." *Water Research* 26 (12): 1655-1672.

Karsa, D.R. (1989). "Industrial applications of surfactants II", Boca Raton.

Keister, T. (2008). "Cooling Water Management - Basic Principles and Technology". Pennsylvania, ProChemTech International, Inc.

Khadre, M.A.; Yousef, A.E. et Kim, J.-G. (2001). "Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review." *Journal of Food Science* 66 (9): 1242-1252.

Kilvington, S. et Price, J. (1990). "Survival of *Legionella pneumophila* within cysts of *Acanthamoeba polyphaga* following chlorine exposure." *Journal of Applied Microbiology* 68 (5): 519-525.

Kim, B.R.; Anderson, J.E.; Mueller, S.A.; Gaines, W.A. et Kendall, A.M. (2002). "Literature review - efficacy of various disinfectants against *Legionella* in water systems." *Water Research* 36 (18): 4433-4444.

Kim, J.; Cho, M.; Oh, B.; Choi, S. et Yoon, J. (2004). "Control of bacterial growth in water using synthesized inorganic disinfectant." *Chemosphere* 55 (5): 775-780.

Kleiser, G. et Frimmel, F.H. (2000). "Removal of precursors for disinfection by-products (DBPs) - differences between ozone- and OH-radical-induced oxidation." *Science of The Total Environment* 256 (1): 1-9.

Knudson, G.B. (1985). "Photoreactivation of UV-irradiated *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species." *Appl. Environ. Microbiol.* 49 (4): 975-980.

Koivunen, J. et Heinonen-Tanski, H. (2005). "Inactivation of enteric microorganisms with chemical disinfectants, UV irradiation and combined chemical/UV treatments." *Water Research* 39 (8): 1519-1526.

Kool, J.L.; Carpenter, J.C. et Fields, B.S. (1999). "Effect of monochloramine disinfection of municipal drinking water on risk of nosocomial Legionnaires' disease." *Lancet* 353 (9149): 272-277.

Korich, D.G.; Mead, J.R.; Madore, M.S.; Sinclair, N.A. et Sterling, C.R. (1990). "Effects of ozone, chlorine dioxide, chlorine, and monochloramine on *Cryptosporidium parvum* oocyst viability." *Applied and Environmental Microbiology* 56 (5): 1423-1428.

Korshin, G.V.; Li, C.-W. et Benjamin, M.M. (1997). "Monitoring the properties of natural organic matter through UV spectroscopy: A consistent theory." *Water Research* 31 (7): 1787-1795.

Kruithof, J.C.; Kamp, P.C. et Martijn, B.J. (2007). "UV/H_2O_2 Treatment: A Practical Solution for Organic Contaminant Control and Primary Disinfection." *Ozone: Science & Engineering* 29 (4): 273-280.

Kuchta, J.; States, S.; Wadowsky, R. et Byers, T. (1993). "Interactions of *Legionella pneumophila* with *Hartmannellavermiformis* including the efficacy of chlorine or copper and silver ions to disrupt the intra-amoebic multiplication of *L.pneumophila*." *Recent Research Developments in Microbiology* 2 ((Part 2)): 405-425.

Kuhn, H.J.; Braslavsky, S.E. et Schmidt, R. (2004). "Chemical Actinometry (IUPAC Technical Report)." *Pure Appl. Chem.* 76 (12): 2105-2146.

Kulovaara, M.; Corin, N.; Backlund, P. et Tervo, J. (1996). "Impact of UV_{254}-radiation on aquatic humic substances." *Chemosphere* 33 (5): 783-790.

Kusnetsov, J.M.; Keskitalo, P.J.; Ahonen, H.E.; Tulkki, A.I.; Miettinen, I.T. et Martikainen, P.J. (1994). "Growth of *legionella* and other heterotrophic bacteria in a circulating cooling water system exposed to ultraviolet irradiation." *Journal of applied bacteriology* 77 (4): 461-466.

Kusnetsov, J.M.; Tulkki, A.I.; Ahonen, H.E. et Martikainen, P.J. (1997). "Efficacy of three prevention strategies against *Legionella* in cooling water systems." *Journal of Applied Microbiology* 82 (6): 763-768.

Labas, M.D.; Brandi, R.J.; Martín, C.A. et Cassano, A.E. (2006). "Kinetics of bacteria inactivation employing UV radiation under clear water conditions." *Chemical Engineering Journal* 121 (2-3): 135-145.

Labas, M.D.; Brandi, R.J.; Zalazar, C.S. et Cassano, A.E. (2009). "Water disinfection with UVC radiation and H_2O_2. A comparative study." *Photochemical & Photobiological Sciences* 8 (5): 670-676.

Labas, M.D.; Zalazar, C.S.; Brandi, R.J. et Cassano, A.E. (2008). "Reaction kinetics of bacteria disinfection employing hydrogen peroxide." *Biochemical Engineering Journal* 38 (1): 78-87.

Lafrance, P.; Duchesne, D.; Arcoutte, N. et Prevost, M. (1993). "The use of ClO_2: case study of Laval.". *Proceedings of Chlorine Dioxide: Drinking Water Issues:*

Second International Symposium (American Water Works Association), Houston, Texas.

Lakretz, A.; Ron, E.Z.; Harif, T. et Mamane, H. (2011a). "Biofilm control in water by advanced oxidation process (AOP) pre-treatment: effect of natural organic matter (NOM)." *Water science and technology* 64 (9): 1876-1884.

Lakretz, A.; Ron, E.Z. et Mamane, H. (2011b). "Biofilm control in water by a UV-based advanced oxidation process." *Biofouling* 27 (3): 295-307.

Lamsal, R.; Walsh, M.E. et Gagnon, G.A. (2011). "Comparison of advanced oxidation processes for the removal of natural organic matter." *Water Research* 45 (10): 3263-3269.

Lau, H.Y. et Ashbolt, N.J. (2009). "The role of biofilms and protozoa in *Legionella* pathogenesis: implications for drinking water." *Journal of Applied Microbiology* 107 (2): 368-378.

LeChevallier, M.W.; Cawthon, C.D. et Lee, R.G. (1988). "Factors promoting survival of bacteria in chlorinated water supplies." *Appl. Environ. Microbiol.* 54 (3): 649-654.

Lee, Y.; Kim, H. et Lee, U. (2004). "Formation of chlorite and chlorate from chlorine dioxide with Han river water." *Korean Journal of Chemical Engineering* 21 (3): 647-653.

Legrini, O.; Oliveros, E. et Braun, A.M. (1993). "Photochemical processes for water treatment." *Chemical Reviews* 93 (2): 671-698.

Leigh, A.G. (1981). "Stabilization of hydrogen peroxide". Patent, United States. Patent: US 4,304,762.

Lesueur, C.; Pfeffer, M. et Fuerhacker, M. (2005). "Photodegradation of phosphonates in water." *Chemosphere* 59 (5): 685-691.

Leteneur, F. (2003). "Prevention de la légionellose sur les réseaux d' eau chaude sanitaire et les tours aéroréfrigérantes." *L'eau, l'industrie, les nuisances* 266: 103-107.

Levi, Y. (2001). "Écologie microbienne des réseaux d'eau potable et risque microbiologique : l'exemple de *Legionella pneumophila*." *Revue Française des Laboratoires* 2001 (336): 33-37.

Lewis, K. (2001). "Riddle of Biofilm Resistance." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 45 (4): 999-1007.

Li, J.; Stouffs, M.; Serrander, L.; Banfi, B.; Bettiol, E.; Charnay, Y.; Steger, K.; Krause, K.-H. et Jaconi, M.E. (2006). "The NADPH Oxidase NOX4 Drives Cardiac Differentiation: Role in Regulating Cardiac Transcription Factors and MAP Kinase Activation." *Molecular Biology of the Cell* 17 (9): 3978-3988.

Liao, C.-H. et Gurol, M.D. (1995). "Chemical Oxidation by Photolytic Decomposition of Hydrogen Peroxide." *Environmental Science & Technology* 29 (12): 3007-3014.

Liao, C.-H.; Lu, M.-C. et Su, S.-H. (2001). "Role of cupric ions in the H_2O_2/UV oxidation of humic acids." *Chemosphere* 44 (5): 913-919.

Ligeza, A.; Tikhonov, A.N.; Hyde, J.S. et Subczynski, W.K. (1998). "Oxygen permeability of thylakoid membranes: electron paramagnetic resonance spin labeling study." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* 1365 (3): 453-463.

Lin, H.-C. et Wang, G.-S. (2011). "Effects of UV/H_2O_2 on NOM fractionation and corresponding DBPs formation." *Desalination* 270 (1-3): 221-226.

Lin, Y.-s.E.; Vidic, R.D.; Stout, J.E. et Yu, V.L. (1998). "*Legionella* in Water Distribution Systems." *Journal American Water Works Association* 90 (9): 112-121.

Lipski, M.; Sławiński, J. et Zych, D. (1999). "Changes in the Luminescent Properties of Humic Acids Induced by UV Radiation." *Journal of Fluorescence* 9 (2): 133-138.

Liu, W.; Andrews, S.A.; Sharpless, C.M.; Stefan, M.I.; Linden, K.G. et Bolton, J.R. (2002). "Bench-Scale Investigations Into Comparative Evaluation of DBP Formation From Different UV/H_2O_2 Technologies." *Proceedings - Water Quality Technology Conference*: 860-869.

Liu, Z.; Stout, J.E.; Tedesco, L.; Boldin, M.; Hwang, C. et Yu, V.L. (1995). "Efficacy of ultraviolet light in preventing *Legionella* colonization of a hospital water distribution system." *Water Research* 29 (10): 2275-2280.

Loewen, P.C. et Switala, J. (1987). "Multiple catalases in *Bacillus subtilis*." *Journal of Bacteriology* 169 (8): 3601-3607.

Loret, J.F.; Robert, S.; Thomas, V.; Cooper, A.J.; McCoy, W.F. et Levi, Y. (2005). "Comparison of disinfectants for biofilm, protozoa and *Legionella* control." *Journal of Water and Health* 03.4: 423-433.

Lorimer, J.P. et Mason, T.J. (1987). "Sonochemistry. Part 1 - The physical aspects." *Chemical Society Reviews* 16: 239-274.

Luppens, S.B.I.; Reij, M.W.; van der Heijden, R.W.L.; Rombouts, F.M. et Abee, T. (2002). "Development of a Standard Test To Assess the Resistance of *Staphylococcus aureus* Biofilm Cells to Disinfectants." *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (9): 4194-4200.

Lutey, R.W. (2000). "Microbiological control in process water systems: an overview". Pittsburgh, PA, USA**:** Page 1.

Lynch, R.E. et Fridovich, I. (1978). "Effects of superoxide on the erythrocyte membrane." *The Journal of biological chemistry* 253 (6): 1838-1845.

Lytle, C.D. (1971). "Host-cell reactivation in mammalian cells. I. Survival of ultra-violet-irradiated herpes virus in different cell-lines." *International journal of radiation biology and related studies in physics, chemistry, and medicine* 19 (4): 329-337.

Ma, M. et Eaton, J.W. (1992). "Multicellular oxidant defense in unicellular organisms." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 89 (17): 7924-7928.

Mah, T.-F.C. et O'Toole, G.A. (2001). "Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents." *Trends in Microbiology* 9 (1): 34-39.

Mai-Prochnow, A.; Lucas-Elio, P.; Egan, S.; Thomas, T.; Webb, J.S.; Sanchez-Amat, A. et Kjelleberg, S. (2008). "Hydrogen Peroxide Linked to Lysine Oxidase Activity Facilitates Biofilm Differentiation and Dispersal in Several Gram-Negative Bacteria." *Journal of Bacteriology* 190 (15): 5493-5501.

Makino, K.; Mossoba, M.M. et Riesz, P. (1983). "Chemical effects of ultrasound on aqueous solutions. Formation of hydroxyl radicals and hydrogen atoms." *The Journal of Physical Chemistry* 87 (8): 1369-1377.

Malley, J.P.; Ballester, N.A.; Margolin, A.B.; Linden, K.G.; Mofidi, A.; Bolton, J.R.; Crozes, G.; Laine, J.M. et Janex, M.L. (2004). "Inactivation of Pathogens with Innovative UV Technologies.".

Mamane-Gravetz, H. et Linden, K.G. (2005). "Relationship between physiochemical properties, aggregation and u.v. inactivation of isolated indigenous spores in water." *Journal of Applied Microbiology* 98 (2): 351-363.

Mamane, H.; Shemer, H. et Linden, K.G. (2007). "Inactivation of *E. coli*, *B. subtilis* spores, and MS2, T4, and T7 phage using UV/H_2O_2 advanced oxidation." *Journal of Hazardous Materials* 146 (3): 479-486.

Mampel, J.r.; Spirig, T.; Weber, S.S.; Haagensen, J.A.J.; Molin, S.r. et Hilbi, H. (2006). "Planktonic Replication Is Essential for Biofilm Formation by *Legionella pneumophila* in a Complex Medium under Static and Dynamic Flow Conditions." *Applied and Environmental Microbiology* 72 (4): 2885-2895.

Maness, P.-C.; Smolinski, S.; Blake, D.M.; Huang, Z.; Wolfrum, E.J. et Jacoby, W.A. (1999). "Bactericidal Activity of Photocatalytic TiO_2 Reaction: toward an Understanding of Its Killing Mechanism." *Applied and Environmental Microbiology* 65 (9): 4094-4098.

Martin-Mousset, B.; Croue, J.P.; Lefebvre, E. et Legube, B. (1997). "Distribution et caractérisation de la matière organique dissoute d'eaux naturelles de surface." *Water Research* 31 (3): 541-553.

Mason, T.J.; Joyce, E.; Phull, S.S. et Lorimer, J.P. (2003). "Potential uses of ultrasound in the biological decontamination of water." *Ultrasonics Sonochemistry* 10 (6): 319-323.

Mason, T.J. et Pétrier, C. (2004). "Ultrasound processes". *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. S. Parson, IWA Publishing**:** 185-208.

Mason, T.J. et Tiehm, A. (2001). "Ultrasound in Environmental Protection". Elsevier.

Masschelein, W.J. (1997). "Processus unitaires du traitement de l'eau potable". Cebedoc et Lavoisier Tec & Doc.

Masschelein, W.J. (2001). "Le dioxyde de chlore pour la maîtrise de la qualité des eaux." *Tribune de l'eau* 54 (613-614).

Masschelein, W.J. (2002). "Ultraviolet light in water and waste water sanitation". Boca Raton, Lewis Publishers.

Mathieu, L.; Paquin, J.L.; Block, J.C.; Randon, G.; Maillard, J. et Reasoner, D. (1992). "Parameters governing bacterial growth in water distribution systems." *Revue des sciences de l'eau* 5: 91-112.

Maya, C.; Beltrán, N.; Jiménez, B. et Bonilla, P. (2003). "Evalution of the UV disinfection process in bacteria and amphizoic amoebae inactivation." *Water Supply* 3 (4): 285-291.

Mazur, T.; Hadas, E. et Iwanicka, I. (1995). "The duration of the cyst stage and the viability and virulence of *Acanthamoeba* isolates." *Tropical medicine and parasitology* 46 (2): 106-108.

McCall, E.; Stout, J.E.; Yu, V. et Vidic, R. (1999). "Efficacy of biocides against biofilm-associated *Legionella* in a model system". *Proceedings of the 60th Annual Meeting, International Water Conference*, Pittsburgh, PA, October 18-20, 1999,, IWC-99-19.

McCoy, W.F. et Wireman, J.W. (1989). "Efficacy of bromochlorodimethylhydantoin against *Legionella pneumophila* in industrial cooling water." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 4: 403-408.

McCoy, W.F.; Wireman, J.W. et Lashen, E.S. (1986). "Efficacy of methylchloro/methylisothiazolone biocide against *Legionella pneumophila* in cooling tower water." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 1 (1): 49-56.

McDonnell, G. et Russell, A.D. (1999). "Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action, and Resistance." *Clinical Microbiology Reviews* 12 (1): 147-179.

McGrane, W.K. (1995). "Ozone, a study of the effects of biocides on *Legionella pneumophila*." *Industrial Water Treatment* 27: 28-32.

Merchat, M. (2005). "Guide de formation à la gestion du risque de prolifération des légionelles dans les installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air", Climespace - Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.

Merchat, M. (2006). "Traitements pour la gestion du risque de prolifération des légionelles dans les installations de refroidissement ", Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.

Messner, K.R. et Imlay, J.A. (1999). "The Identification of Primary Sites of Superoxide and Hydrogen Peroxide Formation in the Aerobic Respiratory Chain and Sulfite Reductase Complex of Escherichia coli." *Journal of Biological Chemistry* 274 (15): 10119-10128.

Miller, J.J.; Brown, W.E. et Krieger, V. (1981). "Laboratory Methods for Testing Bacteriostatic and Bacteriocidal Effects of Water-Treatment Biocides on *Legionella pneumophila* (Legionnaires' Disease Bacterium)". *Developments in Industrial Microbiology, Proceedings of the 37th General Meeting of the Society for Industrial Microbiology*, Flagstaff, AZ.

Miller, S. (1993). "Disinfection Products In Water Treatment." *Environmental Science & Technology* 27 (12): 2292-2294.

Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (2001). "Guide des bonnes pratiques : *Legionella* et tours aéroréfrigérantes"**:** 1-54.

Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable (2004). "Arrêté du 13 décembre 2004 relatif aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air soumises à autorisation au titre de la rubrique n° 2921", Journal Officiel de la République Française. Texte 133 sur 163.

Ministère de l'Economie des Finances et de l'Industrie - Ministère de l'Emploi et de la Solidarité - Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (2001). "Guide des bonnes pratiques : *Legionella* et tours aéroréfrigérantes"**:** 1-54.

Ministère de la Santé et des Solidarités (2007). "Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3, R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique". Journal Officiel de la République Française du 06/02/2007. Texte 17.

Mofidi, A.A.; Rochell, P.A.; Chou, C.I.; Mehta, H.M.; Linden, K.G. et Malley, J.P. (2002). "Bacterial survival after ultraviolet light disinfection: resistance, regrowth and repair". *Proceedings of the American Water Works Association Water Quality Technology Conference*, Seattle, USA.

Moles, J. (2007). "Eaux de distribution - Désinfection." *Techniques de l'ingénieur*. Référence : W 5 500.

Molmeret, M.; Jarraud, S.; Mori, J.P.; Pernin, P.; Forey, F.; Reyrolle, M.; Vandenesch, F.; Etienne, J. et Farge, P. (2001). "Different growth rates in amoeba of genotypically related environmental and clinical *Legionella pneumophila* strains isolated from a thermal spa." *Epidemiology and Infection* 126 (2): 231-239.

Momba, M.N.B.; Cloete, T.E.; Venter, S.N. et Kfir, R. (1999). "Examination of the behaviour of *Escherichia coli* in biofilms established in laboratory-scale units receiving chlorinated and chloraminated water." *Water Research* 33 (13): 2937-2940.

Moran, F. (2006). "Inhibiteurs de corrosion et traitement des eaux = Corrosion inhibitors and water treatment." *Techniques de l'ingénieur* COR2 (COR1000).

Moritz, M.M.; Flemming, H.-C. et Wingender, J. (2010). "Integration of Pseudomonas aeruginosa and *Legionella pneumophila* in drinking water biofilms grown on domestic plumbing materials." *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 213 (3): 190-197.

Morton, L.H.G.; Greenway, D.L.A.; Gaylarde, C.C. et Surman, S.B. (1998). "Consideration of some implications of the resistance of biofilms to biocides." *International Biodeterioration & Biodegradation* 41 (3-4): 247-259.

Muraca, P.; Stout, J.E. et Yu, V.L. (1987). "Comparative assessment of chlorine, heat, ozone, and UV light for killing *Legionella pneumophila* within a model plumbing system." *Applied and Environmental Microbiology* 53 (2): 447-453.

Murga, R.; Forster, T.S.; Brown, E.; Pruckler, J.M.; Fields, B.S. et Donlan, R.M. (2001). "Role of biofilms in the survival of *Legionella pneumophila* in a model potable-water system." *Microbiology* 147 (11): 3121-3126.

Naddeo, V.; Landi, M.; Belgiorno, V. et Napoli, R.M.A. (2009). "Wastewater disinfection by combination of ultrasound and ultraviolet irradiation." *Journal of Hazardous Materials* 168 (2-3): 925-929.

Nakamura, S.-I.; Ugawa, M. et Obana, H. (1993). "Genotoxicity of chlorine-treated amino acids." *Environmental Toxicology & Water Quality* 8 (2): 163-171.

Narkis, N.; Armon, R.; Offer, R.; Orshansky, F. et Friedland, E. (1995). "Effect of suspended solids on wastewater disinfection efficiency by chlorine dioxide." *Water Research* 29 (1): 227-236.

Nicole, I.; De Laat, J.; Dore, M.; Duguet, J.P. et Bonnel, C. (1990). "Utilisation du rayonnement ultraviolet dans le traitement des eaux: mesure du flux photonique par actinométrie chimique au peroxyde d'hydrogène." *Water Research* 24 (2): 157-168.

Norme NF EN 14705 (2005). "Echangeurs de chaleur - Méthode de mesure et évaluation des performances thermiques des aéroréfrigérants humides".

Noss, C.I.; Dennis, W.H. et Olivieri, V.P. (1983). "Reactivity of Chlorine Dioxide with Nucleic Acids and Proteins". *Water Chlorination: Environmental Impact and Health Effects*. Bull J.R. Jolley R.L., Davids W.P., Katz S., Roberts M.H., Jacobs V.A., editors, Chelsea, Lewis Publishers, 4.

O'Toole, G.; Kaplan, H.B. et Kolter, R. (2000). "Biofilm formation as microbial development." *Annual Review of Microbiology* 54 (1): 49-79.

Oguma, K.; Katayama, H. et Ohgaki, S. (2004). "Photoreactivation of *Legionella pneumophila* after inactivation by low- or medium-pressure ultraviolet lamp." *Water Research* 38 (11): 2757-2763.

Olivieri, V.P.; Hauchman, F.S.; Noss, C.I. et Vasl, R. (1985). "Mode of action of chlorine dioxide on selected viruses". *Water chlorination: chemistry, environmental impact and health effects*. Bull J.R. Jolley R.L., Davids W.P., Katz S., Roberts M.H., Jacobs V.A., editors, Lewis Publishers, 5.

Oppezzo, O.J. et Pizarro, R.A. (2001). "Sublethal effects of ultraviolet A radiation on *Enterobacter cloacae*." *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 62 (3): 158-165.

Paar, A.; Raninger, A.; Sousa, F.; Beurer, I. et Paulo, A.C. (2003). "Production of catalase-peroxidase and continuous degradation of hydrogen peroxide by an

immobilised alkalothermophilic bacillus sp." *Food Technology and Biotechnology* 41 (2): 101-104.

Pages, J. (2010). "Statistique générale pour utilisateurs - 1. Méthodologie". Pratiques de la statistique - Presses universitaires de Rennes.

Parkinson, A.; Barry, M.J.; Roddick, F.A. et Hobday, M.D. (2001). "Preliminary toxicity assessment of water after treatment with UV-irradiation and UVC/H_2O_2." *Water Research* 35 (15): 3656-3664.

Parsons, S.A. et Williams, M. (2004). "Introduction". *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. Edited by Simon Parsons, IWA Publishing.

Petrier, C.; Micolle, M.; Merlin, G.; Luche, J.L. et Reverdy, G. (1992). "Characteristics of pentachlorophenate degradation in aqueous solution by means of ultrasound." *Environmental Science & Technology* 26 (8): 1639-1642.

Phull, S.S.; Newman, A.P.; Lorimer, J.P.; Pollet, B. et Mason, T.J. (1997). "The development and evaluation of ultrasound in the biocidal treatment of water." *Ultrasonics Sonochemistry* 4 (2): 157-164.

Pine, L.; George, J.R.; Reeves, M.W. et Harrell, W.K. (1979). "Development of a chemically defined liquid medium for growth of Legionella pneumophila." *Journal of Clinical Microbiology* 9 (5): 615-626.

Pine, L.; Hoffman, P.S.; Malcolm, G.B.; Benson, R.F. et Keen, M.G. (1984). "Determination of catalase, peroxidase, and superoxide dismutase within the genus *Legionella*." *Journal of Clinical Microbiology* 20 (3): 421-429.

Pomposiello, P.J.; Bennik, M.H.J. et Demple, B. (2001). "Genome-Wide Transcriptional Profiling of the *Escherichia coli* Responses to Superoxide Stress and Sodium Salicylate." *Journal of Bacteriology* 183 (13): 3890-3902.

Pope, D.H. et Dziewulski, D.M. (1992). "Efficacy of biocides in controlling microbial populations, including *Legionella*, in cooling systems". Anaheim, CA, USA**:** 24-39.

Poulton, W.I.J. (1993). Ph-D Thesis "Monitoring and control of biofouling in power utility open recirculating cooling water systems.". *MSc thesis*. pages.

Poyatos, J.; Muñio, M.; Almecija, M.; Torres, J.; Hontoria, E. et Osorio, F. (2010). "Advanced Oxidation Processes for Wastewater Treatment: State of the Art." *Water, Air, & Soil Pollution* 205 (1): 187-204.

Pruckler, J.M.; Benson, R.F.; Moyenuddin, M.; Martin, W.T. et Fields, B.S. (1995). "Association of flagellum expression and intracellular growth of *Legionella pneumophila*." *Infection and Immunity* 63 (12): 4928-4932.

Qualls, R.G.; Flynn, M.P. et Johnson, J.D. (1983). "The Role of Suspended Particles in Ultraviolet Disinfection." *Water Pollution Control Federation* 55 (10): 1280-1285.

Quiroga, S.L. et Perissinotti, L.J. (2005). "Reduced mechanism for the 366nm chlorine dioxide photodecomposition in N_2-saturated aqueous solutions." *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 171 (1): 59-67.

R Development Core Team (2011). "R: A language and environment for statistical computing". *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria, http://www.R-project.org/.

Ransome, M.E.; Whitmore, T.N. et Carrigton, E.G. (1993). "Effect of disinfectants on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts." *Water Supply* 11 (1): 103-117.

Rice, R.G. (1997). "Applications of ozone for industrial wastewater treatment : A review." *Ozone : science & engineering* 18 (6): 477-515.

Richter, H.E. et Loewen, P.C. (1982). "Catalase synthesis in *Escherichia coli* is not controlled by catabolite repression." *Archives of Biochemistry and Biophysics* 215 (1): 72-77.

Ridenour, G.M. et Armbruster, E.H. (1949). "Bactericidal effect of chlorine dioxide." *Journal - American Water Works Association* 41: 537-550.

Rincòn, A.-G. et Pulgarin, C. (2004). "Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H_2O_2 on *E.coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO_2: Implications in solar water disinfection." *Applied Catalysis B: Environmental* 51 (4): 283-302.

Rincòn, A.-G. et Pulgarin, C. (2006). "Comparative evaluation of Fe^{3+} and TiO_2 photoassisted processes in solar photocatalytic disinfection of water." *Applied Catalysis B: Environmental* 63 (3-4): 222-231.

Rivas, J.; Gimeno, O.; Borralho, T. et Sagasti, J. (2011). "UV-C and UV-C/peroxide elimination of selected pharmaceuticals in secondary effluents." *Desalination* In Press, Corrected Proof.

Roberts, P.V.; Aieta, E.M.; Berg, J.D. et Chow, B.M. (1980). "Chlorine Dioxide for wastewater Disinfection: A Feasibility Evaluation". Stanford University Technical report**:** 251-257.

Rodier, J.; Legube, B.; Merlet, N. et coll. (2009). "L'Analyse de l'eau - 9e édition". Dunod.

Rogers, J.; Dowsett, A.B.; Dennis, P.J.; Lee, J.V. et Keevil, C.W. (1994). "Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in a model potable water system containing complex microbial flora." *Appl. Environ. Microbiol.* 60 (5): 1585-1592.

Rosenfeldt, E.J. et Linden, K.G. (2004). "Degradation of Endocrine Disrupting Chemicals Bisphenol A, Ethinyl Estradiol, and Estradiol during UV Photolysis and Advanced Oxidation Processes." *Environmental Science & Technology* 38 (20): 5476-5483.

Rossmoore, H.W. et Sondossi, M. (1988). "Applications and mode of action of formaldehyde condensate biocides." *Advances in Applied Microbiology* 33: 223-275.

Roth, M.; Maul, C. et Gericke, K.H. (1997). "Photodissociation dynamics of OClO: O(P-3(J)) state and energy distributions." *J. Chem. Phys.* 107 (24): 10582-10591.

Roulin, J.-L. (2011). "L'ANOVA avec R - Utilisation du package udsAnova", Université de Savoie - Département de Psychologie.

Rowbotham, T.J. (1980). "Preliminary report on the pathogenicity of *Legionella pneumophila* for freshwater and soil amoebae." *Journal of Clinical Pathology* 33 (12): 1179-1183.

Ruiz, B.; Bauza, J.; Benito, J. et Pascual, A. (2007). "Use of ozone for *Legionella* reduction in water systems". Spain.

Russel, A.D. et Chopra, I. (1990). "Understanding Antibacterial Action and Resistance". Ellis Horwood. New York.

Russell, A.D.; Furr, J.R. et Maillard, J.Y. (1997). "Microbial susceptibility and resistance to biocides." *ASM News - American Society for Microbiology* 63: 481-487.

Sablina, A.A.; Budanov, A.V.; Ilyinskaya, G.V.; Agapova, L.S.; Kravchenko, J.E. et Chumakov, P.M. (2005). "The antioxidant function of the p53 tumor suppressor." *Nat Med* 11 (12): 1306-1313.

Sanden, G.N.; Fields, B.S.; Barbaree, J.M. et Feeley, J.C. (1989). "Viability of *Legionella pneumophila* in chlorine-free water at elevated temperatures." *Current Microbiology* 18 (1): 61-65.

Sarathy, S. et Mohseni, M. (2009). "The fate of natural organic matter during UV/H_2O_2 advanced oxidation of drinking water." *Canadian Journal of Civil Engineering* 36 (1): 160-169.

Sarathy, S. et Mohseni, M. (2010). "Effects of UV/H_2O_2 advanced oxidation on chemical characteristics and chlorine reactivity of surface water natural organic matter." *Water Research* 44 (14): 4087-4096.

Sarathy, S.R. et Mohseni, M. (2007). "The Impact of UV/H_2O_2 Advanced Oxidation on Molecular Size Distribution of Chromophoric Natural Organic Matter." *Environmental Science & Technology* 41 (24): 8315-8320.

Sardessai, Y.N. (2005). "Viable but non-culturable bacteria: their impact on public health." *Current Science* 89 (10): 1650.

Sauer, H.; Rahimi, G.; Hescheler, J.r. et Wartenberg, M. (2000). "Role of reactive oxygen species and phosphatidylinositol 3-kinase in cardiomyocyte differentiation of embryonic stem cells." *FEBS Letters* 476 (3): 218-223.

Scherba, G.; Weigel, R.M. et O'Brien, W.D. (1991). "Quantitative assessment of the germicidal efficacy of ultrasonic energy." *Applied and Environmental Microbiology* 57 (7): 2079-2084.

Schoenen, D.; Kolch, A.; Gebel, J. et Hoyer, O. (1995). "UV-Desinfektion von Trinkwasser, Grundlagen und Anvorderungen für die praktische Anwendung." *DVGW-Schriftenreihe Wasser* 86: 303-350.

Schrank, S.G.; Santos, J.N.R.d.; Souza, D.S. et Souza, E.E.S. (2007). "Decolourisation effects of Vat Green 01 textile dye and textile wastewater using H_2O_2/UV process." *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 186 (2-3): 125-129.

Schulte, S. (2003). Ph-D Thesis "Wirksamkeit von Wasserstoffperoxid gegenüber Biofilmen". *Fakultat für Naturwissenschaften der Universität Duisbourg-Essen*. 203 pages.

Schulte, S.; Wingender, J. et Flemming, H.C. (2005). "Efficacy of biocides against biofilms". *Directory of microbicides for the protection of materials and processes*. Paulus W. -, Kluwer academic, Doorrecht, The Netherlands**:** 90-120.

Schurman, J.J. (2001). Ph-D Thesis "Antibacterial activity of hydrogen peroxide against *Escherichia coli* 0157:H7 and *Salmonella spp*. In fruit juices, both alone and in combination with organic acids.". pages.

Schwartz, T.; Hoffmann, S. et Obst, U. (2003). "Formation of natural biofilms during chlorine dioxide and u.v. disinfection in a public drinking water distribution system." *Journal of Applied Microbiology* 95 (3): 591-601.

Seaver, L.C. et Imlay, J.A. (2004). "Are Respiratory Enzymes the Primary Sources of Intracellular Hydrogen Peroxide?" *Journal of Biological Chemistry* 279 (47): 48742-48750.

Seugé, J. et Bluzat, R. (1983). "Toxicité aiguë d'un fongicide dithiocarbamate, le thirame, chez des larves de l'ephémère *Cloeon dipterum* : effets de divers paramètres " *Hydrobiologia* 101 (3): 215-221.

Severin, B.F.; Suidan, M.T. et Engelbrecht, R.S. (1983). "Effect of temperature on ultraviolet light disinfection." *Environmental Science & Technology* 17 (12): 717-721.

Shemer, H. et Linden, K.G. (2007a). "Aqueous photodegradation and toxicity of the polycyclic aromatic hydrocarbons fluorene, dibenzofuran, and dibenzothiophene." *Water Research* 41 (4): 853-861.

Shemer, H. et Linden, K.G. (2007b). "Photolysis, oxidation and subsequent toxicity of a mixture of polycyclic aromatic hydrocarbons in natural waters." *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry* 187 (2-3): 186-195.

Shirai, A.; Maeda, T.; Itoh, M.; Kawano, G. et Kourai, H. (2000). "Control of *Legionella* Species and Host Amoeba by Bis-quaternary Ammonium Compounds." *Biocontrol Science* 5 (2): 97-102.

Silva Martínez, S.; Alvarez Gallegos, A. et Martínez, E. (2004). "Electrolytically generated silver and copper ions to treat cooling water: an environmentally friendly novel alternative." *International Journal of Hydrogen Energy* 29 (9): 921-932.

Singer, P.C. (1993). "Formation and characterization of disinfection byproducts". *Safety of Water Disinfection: Balancing Chemical and Microbial Risks*, Washington: International Life Sciences Institute Press**:** 201-220.

Skaliy, P.; Thompson, T.A.; Gorman, G.W.; Morris, G.K.; McEachern, H.V. et Mackel, D.C. (1980). "Laboratory studies of disinfectants against *Legionella pneumophila*." *Appl. Environ. Microbiol.* 40 (4): 697-700.

Sommer, R.; Cabaj, A.; Pribil, W. et Haider, T. (1997). "Influence of lamp intensity and water transmittance on the UV disinfection of water." *Water science and technology* 35 (11-12): 113-118.

Sommer, R.; Haider, T.; Cabaj, A.; Pribil, W. et Lhotsky, M. (1998). "Time dose reciprocity in UV disinfection of water." *Water science and technology* 38 (12): 145-150.

Sommer, R.; Lhotsky, M.; Hairder, T. et Cabaj, A. (2000). "UV inactivation, liquid-holding recovery, and photoreaction of *E.coli* OH157 and other pathogenic *E. coli* strains in water." *Journal of Food Protection* 63 (8): 1015-1020.

Sondergaard, M. et Middelboe, M. (1995). "A cross-system analysis of labile dissolved organic carbon." *Marine Ecology Progress Series* 118: 283-294.

Sondergaard, M. et Worm, J. (2001). "Measurement of biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) in lake water with a bioreactor." *Water Research* 35 (10): 2505-2513.

Song, W.; Ravindran, V. et Pirbazari, M. (2008). "Process optimization using a kinetic model for the ultraviolet radiation-hydrogen peroxide decomposition of natural and synthetic organic compounds in groundwater." *Chemical engineering science* 63 (12): 3249-3270.

Sproul, O.J.; Chen, Y.S.R.; Engel, J.P. et Rubin, A.J. (1983). "Comparison of chlorine and chlorine dioxide for the inactivation of an amoebic cyst", Taylor & Francis. 4**:** 335-342.

Spuhler, D.; Rengifo-Herrera, J.A. et Pulgarin, C. (2010). "The effect of Fe^{2+}, Fe^{3+}, H_2O_2 and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12." *Appl. Catal. B-Environ.* 96 (1-2): 126-141.

Srikanth, S. et Berk, S.G. (1993). "Stimulatory effect of cooling tower biocides on amoebae." *Appl. Environ. Microbiol.* 59 (10): 3245-3249.

Srikanth, S. et Berk, S.G. (1994). "Adaptation of amoebae to cooling tower biocides." *Microbial ecology* 27 (3): 293-301.

Sriram, R.; Shoff, M.; Booton, G.; Fuerst, P. et Visvesvara, G.S. (2008). "Survival of *Acanthamoeba* Cysts after Desiccation for More than 20 Years." *Journal of Clinical Microbiology* 46 (12): 4045-4048.

Stefan, M.I. (2004). "UV photolysis: background". *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. Edited by Simon Parsons, IWA Publishing.

Steinert, M.; Emody, L.; Amann, R. et Hacker, J. (1997). "Resuscitation of viable but nonculturable *Legionella pneumophila* Philadelphia JR32 by *Acanthamoeba castellanii*." *Appl. Environ. Microbiol.* 63 (5): 2047-2053.

Stewart, P.S.; Grab, L. et Diemer, J.A. (1998). "Analysis of biocide transport limitation in an artificial biofilm system." *Journal of Applied Microbiology* 85 (3): 495-500.

Stewart, P.S.; Roe, F.; Rayner, J.; Elkins, J.G.; Lewandowski, Z.; Ochsner, U.A. et Hassett, D.J. (2000). "Effect of Catalase on Hydrogen Peroxide Penetration into *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms." *Appl. Environ. Microbiol.* 66 (2): 836-838.

Storey, M.V.; Winiecka-krusnell, J.; Ashbolt, N.J. et Stenstram, T.-a. (2004). "The Efficacy of Heat and Chlorine Treatment against Thermotolerant *Acanthamoebae* and *Legionellae*." *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 36 (9): 656-662.

Storz, G.; Christman, M.F.; Sies, H. et Ames, B.N. (1987). "Spontaneous mutagenesis and oxidative damage to DNA in *Salmonella typhimurium*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84 (24): 8917-8921.

Storz, G.; Tartaglia, L. et Ames, B. (1990). "Transcriptional regulator of oxidative stress-inducible genes: direct activation by oxidation." *Science* 248 (4952): 189-194.

Storz, G. et Tartaglia, L.A. (1992). "OxyR: a regulator of antioxidant genes." *The Journal of nutrition* 122 (3 Suppl): 627-630.

Strauss, S.D. et Puckorius, P.R. (1984). "Cooling-water treatment for control of scaling, fouling, corrosion." *Power* 128 (6): 1-24.

Strittmatter, R.J.; Yang, B. et Johnson, D.A. (1992). "Application of ozone in cooling water systems". Nashville, Tennessee, Nalco.

Sundstrom, D.W.; Weir, B.A.; Barber, T.A. et Klei, H.E. (1992). "Destruction of pollutants and microorganisms in water by UV light and hydrogen peroxide." *Water quality research journal of Canada* 27 (1): 57-68.

Suslick, K.S. (1990). "Sonochemistry." *Science* 247 (4949): 1439-1445.

Sutherland, I.W. (2001). "Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework." *Microbiology* 147 (1): 3-9.

Suty, H. et Mekarbane, P. (2000). "Procédé de génération du dioxyde de chlore". Institut National de la Protection Industrielle, Paris. Patent: FR 2 817 545.

Swango, L.J.; Wilt, G.R.; Killen, A.D.; Williams, D.E. et Worley, S.D. (1987). "Inactivation of *Legionella pneumophila* by hypochlorite and an organic chloramine." *Appl. Environ. Microbiol.* 53 (12): 2983-2986.

Swietlik, J.; Raczyk-Stanislawiak, U. et Nawrocki, J. (2009). "The influence of disinfection on aquatic biodegradable organic carbon formation." *Water Research* 43 (2): 463-473.

Thanomsub, B.; Anupunpisit, V.; Chanphetch, S.; Watcharachaipong, T.; Poonkhum, R. et Srisukonth, C. (2002). "Effects of ozone treatment on cell growth and ultrastructural changes in bacteria." *The Journal of General and Applied Microbiology* 48 (4): 193-199.

Thetis-Environnement. (**2011**). "Securox ® ". from http://www.thetis-environnement.com/.

Thomas, V.; Bouchez, T.; Nicolas, V.; Robert, S.; Loret, J.F. et Lévi, Y. (2004). "Amoebae in domestic water systems: resistance to disinfection treatments and implication in *Legionella* persistence." *Journal of Applied Microbiology* 97 (5): 950-963.

Thomas, W.M.; Eccles, J. et Fricker, C. (1999). "Laboratory observations of biocide efficiency against *Legionella* in model cooling tower systems". *ASHRAE Annual Meeting, Seattle, WA (US), 06/18/1999--06/23/1999*, American Society of Heating, Refrigerating and Air-Conditioning Engineers, Inc., Atlanta, GA (US).

Thomson, J.; Parkinson, A. et Roddick, F.A. (2004). "Depolymerization of Chromophoric Natural Organic Matter." *Environmental Science & Technology* 38 (12): 3360-3369.

Thurman, E.M. (1985). "Organic Geochemistry of Natural Water". Dordrecht, Martinus Nijhoff / Dr. W. Junk Publishers.

Toor, R. et Mohseni, M. (2007). "UV-H_2O_2 based AOP and its integration with biological activated carbon treatment for DBP reduction in drinking water." *Chemosphere* 66 (11): 2087-2095.

Traina, S.J.; Novak, J. et Smeck, N.E. (1990). "An Ultraviolet Absorbance Method of Estimating the Percent Aromatic Carbon Content of Humic Acids." *J. Environ. Qual.* 19 (1): 151-153.

Trakhtman, N.N. (1949). "Chlorine Dioxide in Water Disinfection." *Chemical Abstracts* 43 (1508).

Tsaneva, I.R. et Weiss, B. (1990). "soxR, a locus governing a superoxide response regulon in *Escherichia coli* K-12." *Journal of Bacteriology* 172 (8): 4197-4205.

Türetgen, I. (2004). "Comparison of the efficacy of free residual chlorine and monochloramine against biofilms in model and full scale cooling towers." *Biofouling* 20 (2): 81-85.

Tuhkanen, T.A. (2004). "UV/H_2O_2 processes". *Advanced Oxidation Processes for Water and Wastewater Treatment*. Edited by Simon Parsons, IWA Publishing.

Tyndall, R.L. et Domingue, E.L. (1982). "Cocultivation of *Legionella pneumophila* and free-living amoebae." *Applied and Environmental Microbiology* 44 (4): 954-959.

Tytler, E.M.; Wong, T. et Codd, G.A. (1984). "Photoinactivation in vivo of superoxide dismutase and catalase in the cyanobacterium Microcystis aeruginosa." *FEMS Microbiology Letters* 23 (2-3): 239-242.

U.S. Department of Health and Human Services (2004). "Toxicological profile for chlorine dioxide and chlorite".

Uyguner, C.S. et Bekbolet, M. (2005). "Evaluation of humic acid photocatalytic degradation by UV-vis and fluorescence spectroscopy." *Catalysis Today* 101 (3-4): 267-274.

van der Kooij, D.; Veenendaal, H.R.; Baars-Lorist, C.; van der Klift, D.W. et Drost, Y.C. (1995). "Biofilm formation on surfaces of glass and Teflon exposed to treated water." *Water Research* 29 (7): 1655-1662.

van der Wende, E. et Characklis, W.G. (1990). "Biofilms in Potable Water Distribution Systems". *Drinking Water Microbiology: Progress and Recent Developments*, New York, Springer-Verlag New York, Inc.**:** 249-268.

Veal, E.A.; Day, A.M. et Morgan, B.A. (2007). "Hydrogen Peroxide Sensing and Signaling." *Molecular Cell* 26 (1): 1-14.

Veschetti, E.; Cittadini, B.; Maresca, D.; Citti, G. et Ottaviani, M. (2005). "Inorganic by-products in waters disinfected with chlorine dioxide." *Microchemical Journal* 79 (1-2): 165-170.

Viera, M.R.; Guiamet, P.S.; de Mele, M.F.L. et Videla, H.A. (1999). "Use of dissolved ozone for controlling planktonic and sessile bacteria in industrial cooling systems." *International Biodeterioration & Biodegradation* 44 (4): 201-207.

Vilhunen, S.; Vilve, M.; Vepsäläinen, M. et Sillanpää, M. (2010). "Removal of organic matter from a variety of water matrices by UV photolysis and UV/H_2O_2 method." *Journal of Hazardous Materials* 179 (1-3): 776-782.

Volk, C.J.; Hofmann, R.; Chauret, C.; Gagnon, G.A.; Ranger, G. et Andrews, R.C. (2002). "Implementation of chlorine dioxide disinfection: Effects of the treatment change on drinking water quality in a full-scale distribution system." *Journal of Environmental Engineering and Science* 1: 323-330.

von Sonntag, C.; Kolch, A.; Gebel, J.; Oguma, K. et R., S. (2004). "The photochemical basis of UV disinfection". *Proceedings European Conference on UV Radiation, Effects and Technologies, 6.1.*, Karlsruhe, Germany.

Wadowsky, R.M.; Butler, L.J.; Cook, M.K.; Verma, S.M.; Paul, M.A.; Fields, B.S.; Keleti, G.; Sykora, J.L. et Yee, R.B. (1988). "Growth-supporting activity for *Legionella pneumophila* in tap water cultures and implication of *Hartmannellid* amoebae as growth factors." *Applied and Environmental Microbiology* 54 (11): 2677-2682.

Wainwright, M. (1988). "Structure and biology of bacteria relevant to the action of disinfectants". *Industrial Biocides*. K.R. Payne, Chichester, John Wiley & Sons.

Walker, J.T.; Mackerness, C.W.; Mallon, D.; Makin, T.; Williets, T. et Keevil, C.W. (1995). "Control of *Legionella pneumophila* in a hospital water system by chlorine dioxide." *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 15 (4): 384-390.

Walker, J.T. et Morales, M. (1997). "Evaluation of chlorine dioxide (ClO_2) for the control of biofilms." *Water science and technology* 35 (11-12): 319-323.

Wallhäußer, K.H. (1995). "Praxis der Sterilisation, Desinfektion – Konservierung: Keimidentifizierung – Betriebshygiene (5th edn.)". Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Wang, G.-S.; Hsieh, S.-T. et Hong, C.-S. (2000). "Destruction of humic acid in water by UV light catalyzed oxidation with hydrogen peroxide." *Water Research* 34 (15): 3882-3887.

Wang, G.S.; Liao, C.H.; Chen, H.W. et Yang, H.C. (2006). "Characteristics of Natural Organic Matter Degradation in Water by UV/H_2O_2 Treatment." *Environmental technology* 27: 277-287.

Water Care Services Ltd (2002). "Pilot plant investigations, surrogate study, results and recommendations". Disinfection review group report Water Care Services Ltd., Auckland, New Zealand.

Weaver, R.E. (1978). "Cultural ans staining characteristics". *"Legionnaires," the disease, the bacterium, and methodology*. G.L. Jones et G.A. Hebert, Atlanta, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health service, Center for Disease Control**:** 39-44.

Weeks, J.L. et Rabani, J. (1966). "The Pulse Radiolysis of Deaerated Aqueous Carbonate Solutions. I. Transient Optical Spectrum and Mechanism. II. pK for OH Radicals1." *The Journal of Physical Chemistry* 70 (7): 2100-2106.

Werdehoff, K.S. et Singer, P.C. (1987). "Chlorine Dioxide Effects on THMFP, TOXFP, and the Formation of Inorganic By-products." *Journal American Water Works Association* 79 (9): 107-113.

Westerhoff, P.; Aiken, G.; Amy, G. et Debroux, J. (1999a). "Relationships between the structure of natural organic matter and its reactivity towards molecular ozone and hydroxyl radicals." *Water Research* 33 (10): 2265-2276.

Westerhoff, P.; Debroux, J.; Aiken, G. et Amy, G. (1999b). "Ozone induced changes in natural organic matter (NOM) structure." *Ozone: Science & Engineering* 21: 551-570.

White, G.C. (1992). "The Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants". Third edition. New York.

Wingender, J.; Neu, T. et Flemming, H.C. (1999). "What are bacterial extracellular polymer substances ?". *Microbial extracellular polymer substances : Characterization, Structure and Function*. J. Wingender, T. Neu et H.C. Flemming (eds.), Heidelberg, Berlin, Springer.

Winquist, L.; Rannug, U.; Rannug, A. et Ramel, C. (1984). "Protection from toxic and mutagenic effects of H_2O_2 by catalase induction in *Salmonella typhimurium*." *Mutation Research Letters* 141 (3â€“4): 145-147.

Wols, B.A. et Hofman-Caris, C.H.M. (2012). "Review of photochemical reaction constants of organic micropollutants required for UV advanced oxidation processes in water." *Water Research* (0).

Woodcock, P.M. (1988). "Biguanides as industrial biocides". *Industrial Biocides*. K.R. Payne, Chichester, John Wiley & Sons.

World Health Organisation (2011). "Guidelines for Drinking-water Quality, Fourth Edition".

Wright, J.B.; Ruseska, I. et Costerton, J.W. (1991). "Decreased biocide susceptibility of adherent *Legionella pneumophila*." *Journal of Applied Microbiology* 71 (6): 531-538.

Xie, Y.F. (2004). "Disinfection Byproducts in Drinking Water". Boca raton, Lewis Publishers.

Xu, X.; Stewart, P.S. et Chen, X. (1996). "Transport limitation of chlorine disinfection of *Pseudomonas aeruginosa* entrapped in alginate beads." *Biotechnology and Bioengineering* 49 (1): 93-100.

Yamamoto, H.; Ezaki, T.; Ikedo, M. et Yabuuchi, E. (1991). "Effects of biocidal treatments to inhibit the growth of *Legionellae* and other microorganisms in cooling towers." *Microbiology and immunology* 35 (9): 795-802.

Yamamoto, H.; Urakami, I.; Nakano, K.; Ikedo, M. et Yabuuchi, E. (1987). "Effects of Flonizer™, ultraviolet sterilizer, on *Legionella* species inhabiting cooling tower water." *Microbiology and immunology* 31 (8): 745-752.

Yamayoshi, T. et Tatsumi, N. (1990). "Germicidal effects of ultraviolet radiation on *Legionella* contaminating water". *Indoor Air 90, Proceedings of the 5th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*, Ottawa , Ontario , Canada : Mortgage and Housing Corporation.

Yanez, M.A.; Carrasco-Serrano, C.; Barbera, V.M. et Catalan, V. (2005). "Quantitative Detection of *Legionella pneumophila* in Water Samples by

Immunomagnetic Purification and Real-Time PCR Amplification of the dotA Gene." *Applied and Environmental Microbiology* 71 (7): 3433-3441.

Yonar, T.; Kestioglu, K. et Azbar, N. (2006). "Treatability studies on domestic wastewater using UV/H_2O_2 process." *Applied Catalysis B: Environmental* 67 (3-4): 223-228.

Yoshpe-Purer, Y.; Henis, Y. et Yashphe, J. (1977). "Regulation of catalase level in *Escherichia coli* K12." *Canadian journal of microbiology* 23 (1): 84-91.

Zhang, B.; Zhang, L.; Li, F.; Hu, W. et Hannam, P.M. (2010). "Testing the formation of Ca-phosphonate precipitates and evaluating the anionic polymers as Ca-phosphonate precipitates and $CaCO_3$ scale inhibitor in simulated cooling water." *Corrosion Science* 52 (12): 3883-3890.

Zhang, X.; Bishop, P.L. et Kupferle, M.J. (1998). "Measurement of polysaccharides and proteins in biofilm extracellular polymers." *Water science and technology* 37 (4-5): 345-348.

Zimmer, J.L. et Slawson, R.M. (2002). "Potential Repair of Escherichia coli DNA following Exposure to UV Radiation from Both Medium- and Low-Pressure UV Sources Used in Drinking Water Treatment." *Appl. Environ. Microbiol.* 68 (7): 3293-3299.

Annexe A :
Classification des tours aéroréfrigérantes

Une tour aéroréfrigérante (TAR) joue le rôle d'échangeur de chaleur, permettant un refroidissement de l'eau au travers d'un flux d'air. Il existe différentes classifications, selon[1] :

- le contact entre ces deux fluides (direct ou indirect),
- leurs trajectoires relatives (contre-courant ou courant croisé),
- la mise en mouvement de l'air (ventilation naturelle ou tirage forcé).

A. Classification selon le mode d'échange

La classification selon le mode d'échange est la plus importante car elle permet de connaître le fonctionnement de la TAR. Les autres donnent uniquement de plus amples détails sur la circulation des fluides.

Les typologies employées sont au nombre de 3 (Figure A.1) [1,2] :

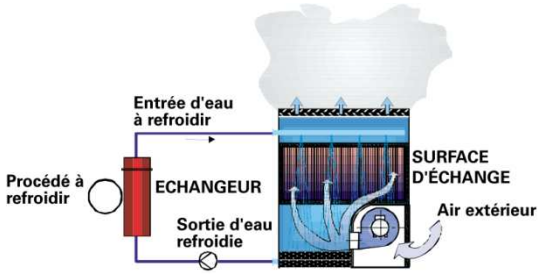
- TAR dites « humides » : l'eau utilisée pour refroidir un procédé est pulvérisée en tête de tour et traversée par un flux d'air, avant d'arriver dans le bassin de rétention et de retourner vers le procédé ;
- TAR dites « sèches » : l'eau à refroidir se trouve dans un circuit indépendant. Ce dernier est refroidi uniquement grâce à un flux d'air ;
- TAR hybrides, constituées d'une batterie sèche et d'un corps d'échange. Le fonctionnement est alors mixte. L'eau provenant du procédé à refroidir se trouve dans un circuit indépendant. Celui-ci sera refroidi grâce à un flux d'air au contact de ses parois. L'eau s'y trouvant est ensuite envoyée dans le bassin de rétentio de la TAR, sauf si le refroidissement n'est pas suffisant. Dans ce cas, l'eau sera au préalable pulvérisée au travers d'un flux d'air avant de rejoindre la bâche de la TAR puis le procédé à refroidir.

Il existe également le cas des circuits fermés, où se trouve l'eau utilisée pour refroidir le procédé. Il s'agit d'une TAR « humide » dans laquelle une portion du circuit fermé se retrouve au niveau de la zone d'échange (packing). Le refroidissement de ce circuit s'effectue alors par la pulvérisation d'eau – spécifique à la tour – avec la présence éventuelle d'un flux d'air. Ainsi, l'eau présente dans le circuit n'est jamais en contact avec l'air ; seule l'eau de la TAR utilisée pour le refroidissement de celui-ci peut l'être.

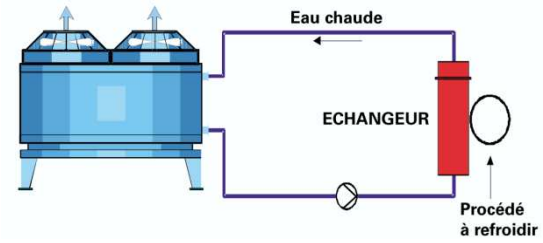
[1] **Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement (2001)**. "Guide des bonnes pratiques – *Legionella* et tours aéroréfrigérantes"

[2] **Centre Technique des Industries Aérauliques et Thermiques (2005)**. "Guide technique - Les différents procédés de refroidissement dans les installations industrielles et tertiaires".

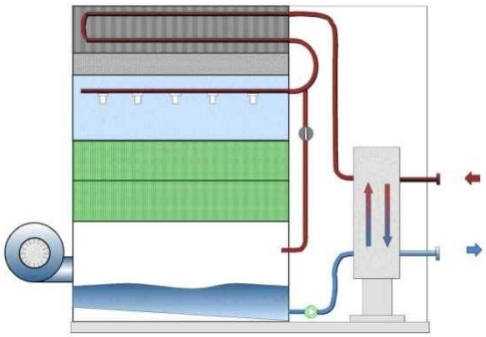
(a) TAR humide



(b) TAR sèche



(c) TAR hybride



(d) TAR fermée

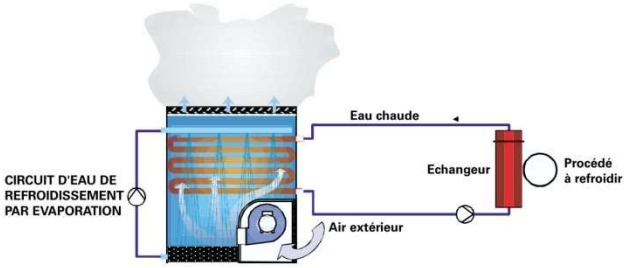


Figure A.1 : Différents types de tours aéroréfrigérantes[1,2]

B. Comparatif TAR sèches / TAR humides

A l'exception des TAR sèches, tous les autres types de tour possèdent un système de distribution d'eau pouvant être à l'origine d'émissions de vapeur et de fines gouttelettes d'eau à l'atmosphère, potentiellement dangereuses pour l'homme si elles sont contaminées (principalement *Legionella pneumophila*). Cependant ces TAR sèches sont beaucoup moins efficaces[3] :

- Leur rendement énergétique est bien plus faible que celui des TAR humides (environ deux fois plus faible).
- Elles sont inopérantes lorsque la température extérieure dépasse un certain seuil (de l'ordre de 35°C), ce qui est problématique en été pour les installations de climatisation.
- Elles présentent des contraintes mécaniques de fonctionnement des groupes frigorigènes plus importantes, avec la possibilité d'émission de fluide frigorigène à l'atmosphère.
- Elles nécessitent un débit d'air 4 fois plus important, entraînant des nuisances sonores non négligeables.

[3] **Merchat, M. (2005)**. "Guide de formation à la gestion du risque de prolifération des légionelles dans les installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air", Climespace - Ministère de l'Ecologie et du Développement Durable.

Annexe B :
Arrêté du 13 décembre 2004 – relatif aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air

Décrets, arrêtés, circulaires

TEXTES GÉNÉRAUX

MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU DÉVELOPPEMENT DURABLE

Arrêté du 13 décembre 2004 relatif aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air soumises à autorisation au titre de la rubrique n° 2921

NOR : *DEVP0430480A*

Le ministre de l'écologie et du développement durable,

Vu le code de l'environnement, et notamment le titre Ier du livre V ;

Vu le décret n° 77-1133 du 21 septembre 1977 modifié pris pour l'application de la loi n° 76-663 du 19 juillet 1976 relative aux installations classées pour la protection de l'environnement ;

Vu l'avis du Conseil supérieur des installations classées en date du 24 juin 2004,

Arrête :

TITRE Ier

DOMAINE D'APPLICATION

Art. 1er. – Le présent arrêté fixe les prescriptions applicables de plein droit aux installations de refroidissement par dispersion d'eau dans un flux d'air soumises à autorisation préfectorale au titre de la rubrique n° 2921 de la nomenclature des installations classées.

L'arrêté d'autorisation peut fixer, dès que cela s'avère nécessaire, des dispositions plus sévères que celles du présent arrêté.

Art. 2. – Sont considérés comme faisant partie de l'installation de refroidissement au sens du présent arrêté l'ensemble des éléments suivants : tour(s) de refroidissement et ses parties internes, échangeur(s), l'ensemble composant le circuit d'eau en contact avec l'air (bac[s], canalisation[s], pompe[s]...), ainsi que le circuit d'eau d'appoint (jusqu'au dispositif de protection contre la pollution par retour dans le cas d'un appoint par le réseau public) et le circuit de purge. L'installation de refroidissement est dénommée « installation » dans la suite du présent arrêté.

TITRE II

PRÉVENTION DU RISQUE LÉGIONELLOSE

Art. 3. – 1. *Règles d'implantation.*

Les rejets d'air potentiellement chargé d'aérosols ne sont effectués ni au droit d'une prise d'air, ni au droit d'ouvrants. Les points de rejets sont aménagés de façon à éviter le siphonnage de l'air chargé de goutellettes dans les conduits de ventilation d'immeubles avoisinants ou les cours intérieures.

2. *Accessibilité.*

L'installation de refroidissement doit être aménagée pour permettre les visites d'entretien et les accès notamment aux parties internes, aux bassins et aux parties hautes à la hauteur des rampes de pulvérisation de la tour.

La tour doit être équipée de tous les moyens d'accessibilité nécessaires à son entretien et sa maintenance dans les conditions de sécurité ; ces moyens permettent à tout instant de vérifier l'entretien et la maintenance de la tour.

Art. 4. – L'installation doit être conçue pour faciliter les opérations de vidange, nettoyage, désinfection et les prélèvements pour analyses microbiologiques et physico-chimiques. Elle doit être conçue de façon à ce qu'en aucun cas, il n'y ait des tronçons de canalisations constituant des bras morts, c'est-à-dire dans lesquels soit l'eau ne circule pas, soit l'eau circule en régime d'écoulement laminaire. L'installation est équipée d'un dispositif permettant la purge complète de l'eau du circuit. L'exploitant doit disposer des plans de l'installation tenus à jour, afin de justifier des dispositions prévues ci-dessus.

Les matériaux en contact avec l'eau sont choisis en fonction des conditions de fonctionnement de l'installation afin de ne pas favoriser la formation de biofilm, de faciliter le nettoyage et la désinfection et en prenant en compte la qualité de l'eau ainsi que le traitement mis en œuvre afin de prévenir les phénomènes de corrosion, d'entartrage ou de formation de biofilm.

La tour doit être équipée d'un dispositif de limitation des entraînements vésiculaires constituant un passage obligatoire du flux d'air potentiellement chargé de vésicules d'eau, immédiatement avant rejet : le taux d'entraînement vésiculaire attesté par le fournisseur du dispositif de limitation des entraînements vésiculaires est inférieur à 0,01 % du débit d'eau en circulation dans les conditions de fonctionnement normales de l'installation.

Art. 5. – L'exploitation s'effectue sous la surveillance d'une personne nommément désignée par l'exploitant, formée et ayant une connaissance de la conduite de l'installation et des risques qu'elle présente, notamment du risque lié à la présence de légionelles, ainsi que des dangers et inconvénients des produits utilisés ou stockés dans l'installation.

Toutes les personnes susceptibles d'intervenir sur l'installation sont désignées et formées en vue d'appréhender selon leurs fonctions le risque légionellose associé à l'installation. L'organisation de la formation, ainsi que l'adéquation du contenu de la formation aux besoins sont explicités et formalisées.

L'ensemble des documents justifiant la formation des personnels est tenu à la disposition de l'inspection des installations classées.

Les personnes étrangères à l'établissement ne doivent pas avoir un accès libre aux installations.

Art. 6. – 1. *Dispositions générales relatives à l'entretien préventif, au nettoyage et à la désinfection de l'installation.*

a) Une maintenance et un entretien adaptés de l'installation sont mis en place afin de limiter la prolifération des légionelles dans l'eau du circuit et sur toutes les surfaces de l'installation en contact avec l'eau du circuit où pourrait se développer un biofilm.

b) L'exploitant s'assure du bon état et du bon positionnement du dispositif de limitation des entraînements vésiculaires. Lors d'un changement de dispositif de limitation des entraînements vésiculaires, l'exploitant devra s'assurer auprès du fabricant de la compatibilité de ce dernier avec les caractéristiques de la tour.

c) Un plan d'entretien préventif, de nettoyage et désinfection de l'installation, visant à maintenir en permanence la concentration des légionelles dans l'eau du circuit à un niveau inférieur à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau, est mis en œuvre sous la responsabilité de l'exploitant. Le plan d'entretien préventif, de nettoyage et désinfection de l'installation est défini à partir d'une analyse méthodique de risques de développement des légionelles.

d) L'analyse méthodique de risques de développement des légionelles est menée sur l'installation dans ses conditions de fonctionnement normales (conduite, arrêts complets ou partiels, redémarrages, interventions relatives à la maintenance ou l'entretien) et dans ses conditions de fonctionnement exceptionnelles (changement sur l'installation ou dans son mode d'exploitation).

En particulier, sont examinés quand ils existent :

- les modalités de gestion des installations de refroidissement (et notamment les procédures d'entretien et de maintenance portant sur ces installations) ;
- le cas échéant, les mesures particulières s'appliquant aux installations qui ne font pas l'objet d'un arrêt annuel ;
- les résultats des indicateurs de suivi et des analyses en légionelles ;
- les actions menées en application de l'article 9 et la fréquence de ces actions ;
- les situations d'exploitation pouvant ou ayant pu conduire à un risque de développement de biofilm dans le circuit de refroidissement, notamment incidents d'entretien, bras mort temporaire lié à l'exploitation, portions à faible vitesse de circulation de l'eau, portions à température plus élevée.

L'analyse de risque prend également en compte les conditions d'implantation et d'aménagement ainsi que la conception de l'installation.

Cet examen s'appuie notamment sur les compétences de l'ensemble des personnels participant à la gestion du risque légionellose, y compris les sous-traitants susceptibles d'intervenir sur l'installation.

e) Des procédures adaptées à l'exploitation de l'installation sont rédigées pour définir et mettre en œuvre :

- la méthodologie d'analyse des risques ;
- les mesures d'entretien préventif de l'installation en fonctionnement pour éviter la prolifération des micro-organismes et en particulier des légionelles ;
- les mesures de vidange, nettoyage et désinfection de l'installation à l'arrêt ;
- les actions correctives en cas de situation anormale (dérive des indicateurs de contrôle, défaillance du traitement préventif...) ;
- l'arrêt immédiat de l'installation dans des conditions compatibles avec la sécurité du site et de l'outil de production.

Ces procédures formalisées sont jointes au carnet de suivi, défini à l'article 11.

2. *Entretien préventif de l'installation en fonctionnement.*

L'installation est maintenue propre et dans un bon état de surface pendant toute la durée de son fonctionnement.

Afin de limiter les phénomènes d'entartrage et de corrosion, qui favorisent la formation du biofilm sur les surfaces de l'installation et la prolifération des légionelles, l'exploitant s'assure d'une bonne gestion hydraulique dans l'ensemble de l'installation (régime turbulent) et procède à un traitement régulier à effet permanent de son installation pendant toute la durée de son fonctionnement. Le traitement pourra être chimique ou mettre en œuvre tout autre procédé dont l'exploitant aura démontré l'efficacité sur le biofilm et sur les légionelles dans les conditions de fonctionnement de l'exploitation.

Dans le cas où un traitement chimique serait mis en œuvre, les concentrations des produits sont fixées et maintenues à des niveaux efficaces ne présentant pas de risque pour l'intégrité de l'installation. L'exploitant vérifie la compatibilité des produits de traitement, nettoyage et désinfection utilisés. En particulier, le choix des produits biocides tient compte du pH de l'eau du circuit en contact avec l'air et du risque de développement de souches bactériennes résistantes en cas d'accoutumance au principe actif du biocide. L'exploitant dispose de réserves suffisantes de produits pour faire face à un besoin urgent ou à des irrégularités d'approvisionnement.

Le dispositif de purge de l'eau du circuit permet de maintenir les concentrations minérales à un niveau acceptable en adéquation avec le mode de traitement de l'eau.

Les appareils de traitement et les appareils de mesure sont correctement entretenus et maintenus conformément aux règles de l'art.

3. *Nettoyage et désinfection de l'installation à l'arrêt.*

L'installation de refroidissement est vidangée, nettoyée et désinfectée :

- avant la remise en service de l'installation de refroidissement intervenant après un arrêt prolongé ;
- et en tout état de cause au moins une fois par an, sauf dans le cas des installations concernées par l'article 7 du présent arrêté.

Les opérations de vidange, nettoyage et désinfection comportent :

- une vidange du circuit d'eau ;
- un nettoyage de l'ensemble des éléments de l'installation (tour de refroidissement, bacs, canalisations, garnissages et échangeur[s]...) ;
- une désinfection par un produit dont l'efficacité vis-à-vis de l'élimination des légionelles a été reconnue ; le cas échéant cette désinfection s'appliquera à tout poste de traitement d'eau situé en amont de l'alimentation en eau du système de refroidissement.

Lors des opérations de vidange, les eaux résiduaires sont soit rejetées à l'égoût, soit récupérées et éliminées dans une station d'épuration ou un centre de traitement des déchets dûment autorisé à cet effet au titre de la législation des installations classées. Les rejets ne doivent pas nuire à la sécurité des personnes, à la qualité des milieux naturels, ni à la conservation des ouvrages, ni, éventuellement, au fonctionnement de la station d'épuration dans laquelle s'effectue le rejet.

Lors de tout nettoyage mécanique, des moyens de protection sont mis en place afin de prévenir tout risque d'émissions d'aérosols dans l'environnement. L'utilisation d'un nettoyage à jet d'eau sous pression doit être spécifiquement prévue par une procédure particulière et doit faire l'objet d'un plan de prévention au regard du risque de dispersion de légionelles.

Art. 7. – Si l'exploitant se trouve dans l'impossibilité technique ou économique de réaliser l'arrêt prévu au paragraphe 3 de l'article 6 pour le nettoyage et la désinfection de l'installation, il devra en informer le préfet et lui proposer la mise en œuvre de mesures compensatoires.

L'inspection des installations classées pourra soumettre ces mesures compensatoires à l'avis d'un tiers expert.

Ces mesures compensatoires seront, après avis de l'inspection des installations classées, imposées par arrêté préfectoral pris en application de l'article 18 du décret du 21 septembre 1977.

Art. 8. – Un plan de surveillance destiné à s'assurer de l'efficacité du nettoyage et de la désinfection de l'installation est défini à partir des conclusions de l'analyse méthodique des risques menée conformément aux dispositions prévues à l'article 6. Ce plan est mis en œuvre sur la base de procédures formalisées.

L'exploitant identifie les indicateurs physico-chimiques et microbiologiques qui permettent de diagnostiquer les dérives au sein de l'installation. Les prélèvements pour ces diverses analyses sont réalisés périodiquement par l'exploitant selon une fréquence et des modalités qu'il détermine afin d'apprécier l'efficacité des mesures de prévention qui sont mises en œuvre. Toute dérive implique des actions correctives déterminées par l'exploitant.

L'exploitant adapte et actualise la nature et la fréquence de la surveillance pour tenir compte des évolutions de son installation, de ses performances par rapport aux obligations réglementaires et de ses effets sur l'environnement.

1. *Fréquence des prélèvements en vue de l'analyse des légionelles.*

La fréquence des prélèvements et analyses des *Legionella specie* selon la norme NF T90-431 est au minimum mensuelle pendant la période de fonctionnement de l'installation.

Si, pendant une période d'au moins 12 mois continus, les résultats des analyses mensuelles sont inférieurs à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau, la fréquence des prélèvements et analyses des *Legionella specie* selon la norme NF T90-431 pourra être au minimum trimestrielle.

Si un résultat d'une analyse en légionelles est supérieur ou égal à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau, ou si la présence de flore interférente rend impossible la quantification de *Legionella specie,* la fréquence des prélèvements et analyses des *Legionella specie* selon la norme NF T90-431 devra être de nouveau au minimum mensuelle.

2. *Modalités de prélèvements en vue de l'analyse des légionelles.*

Le prélèvement est réalisé par un opérateur formé à cet effet sur un point du circuit d'eau de refroidissement où l'eau est représentative de celle en circulation dans le circuit et hors de toute influence directe de l'eau d'appoint. Ce point de prélèvement, repéré par un marquage, est fixé sous la responsabilité de l'exploitant de façon à faciliter les comparaisons entre les résultats de plusieurs analyses successives.

La présence de l'agent bactéricide utilisé dans l'installation doit être prise en compte, notamment dans le cas où un traitement continu à base d'oxydant est réalisé : le flacon d'échantillonnage, fourni par le laboratoire, doit contenir un neutralisant en quantité suffisante.

S'il s'agit d'évaluer l'efficacité d'un traitement de choc réalisé à l'aide d'un biocide, ou de réaliser un contrôle sur demande de l'inspection des installations classées, les prélèvements sont effectués juste avant le choc et dans un délai d'au moins 48 heures après celui-ci.

Les dispositions relatives aux échantillons répondent aux dispositions prévues par la norme NF T90-431.

3. *Laboratoire en charge de l'analyse des légionelles.*

L'exploitant adresse le prélèvement à un laboratoire, chargé des analyses en vue de la recherche des *Legionella specie* selon la norme NF T90-431, qui répond aux conditions suivantes :

- le laboratoire est accrédité selon la norme NF EN ISO/CEI 17025 par le Comité français d'accréditation (COFRAC) ou tout autre organisme d'accréditation équivalent européen, signataire de l'accord multilatéral pris dans le cadre de la coordination européenne des organismes d'accréditation ;
- le laboratoire rend ses résultats sous accréditation ;
- le laboratoire participe à des comparaisons interlaboratoires quand elles existent.

4. *Résultats de l'analyse des légionelles.*

Les ensemencements et les résultats doivent être présentés selon la norme NF T90-431. Les résultats sont exprimés en unité formant colonies par litre d'eau (UFC/L).

L'exploitant demande au laboratoire chargé de l'analyse que les ensemencements dont les résultats font apparaître une concentration en légionelles supérieures à 100 000 UFC/L soient conservés pendant 3 mois par le laboratoire.

Le laboratoire d'analyse fournit les informations nécessaires à l'identification de l'échantillon :

- coordonnées de l'installation ;
- date, heure de prélèvement, température de l'eau ;
- nom du préleveur présent ;
- référence et localisation des points de prélèvement ;
- aspect de l'eau prélevée : couleur, dépôt ;
- pH, conductivité et turbidité de l'eau au lieu du prélèvement ;
- nature et concentration des produits de traitements (biocides, biodispersants...) ;
- date de la dernière désinfection choc.

Les résultats obtenus font l'objet d'une interprétation.

L'exploitant s'assure que le laboratoire l'informera des résultats définitifs et provisoires de l'analyse par des moyens rapides (télécopie, courriel) si :

- le résultat définitif de l'analyse dépasse le seuil de 1 000 unités formant colonies par litre d'eau ;
- le résultat définitif de l'analyse rend impossible la quantification de *Legionella specie* en raison de la présence d'une flore interférente.

5. *Prélèvements et analyses supplémentaires.*

L'inspection des installations classées peut demander à tout moment la réalisation de prélèvements et analyses supplémentaires, y compris en déclenchant un contrôle de façon inopinée, ainsi que l'identification génomique des souches prélevées dans l'installation par le Centre national de référence des légionelles (CNR de Lyon).

Ces prélèvements et analyses microbiologiques et physico-chimiques sont réalisés par un laboratoire répondant aux conditions définies au point 3 du présent article. Une copie des résultats de ces analyses supplémentaires est adressée à l'inspection des installations classées par l'exploitant, dès leur réception.

L'ensemble des frais des prélèvements et analyses sont supportés par l'exploitant.

Art. 9. – 1. *Actions à mener si la concentration mesurée en* Legionella specie *est supérieure ou égale à 100 000 unités formant colonies par litre d'eau selon la norme NF T90-431.*

a) Si les résultats des analyses en légionelles, selon la norme NF T90-431, réalisées en application de l'ensemble des dispositions qui précèdent, mettent en évidence une concentration en *Legionella specie* supérieure ou égale à 100 000 unités formant colonies par litre d'eau, l'exploitant arrête, dans les meilleurs délais, l'installation de refroidissement, selon une procédure d'arrêt immédiat qu'il aura préalablement définie, et réalise la vidange, le nettoyage et la désinfection de l'installation de refroidissement. La procédure d'arrêt immédiat prendra en compte le maintien de l'outil et les conditions de sécurité de l'installation, et des installations associées.

Dès réception des résultats selon la norme NF T90-431, l'exploitant en informe immédiatement l'inspection des installations classées par télécopie avec la mention : « URGENT ET IMPORTANT, TOUR AÉRORÉFRIGÉRANTE, DÉPASSEMENT DU SEUIL DE 100 000 UNITÉS FORMANT COLONIES PAR LITRE D'EAU. » Ce document précise :

– les coordonnées de l'installation ;
– la concentration en légionelles mesurée ;
– la date du prélèvement ;
– les actions prévues et leurs dates de réalisation.

b) Avant la remise en service de l'installation, il procède à une analyse méthodique des risques de développement des légionelles dans l'installation, telle que prévue à l'article 6.1, ou à l'actualisation de l'analyse existante, en prenant notamment en compte la conception de l'installation, sa conduite, son entretien et son suivi. Cette analyse des risques doit permettre de définir les actions correctives visant à réduire les risques de développement des légionelles et de planifier la mise en œuvre des moyens susceptibles de réduire ces risques. Le plan d'actions correctives ainsi que la méthodologie mise en œuvre pour analyser cet incident sont joints au carnet de suivi.

L'exploitant met en place les mesures d'amélioration prévues et définit les moyens susceptibles de réduire le risque. Les modalités de vérification de l'efficacité de ces actions avant et après remise en service de l'installation sont définies par des indicateurs tels que des mesures physico-chimiques ou des analyses microbiologiques.

c) Après remise en service de l'installation, l'exploitation vérifie immédiatement l'efficacité du nettoyage et des autres mesures prises selon les modalités définies précédemment.

Quarante-huit heures après cette remise en service, l'exploitant réalise un prélèvement, pour analyse des légionelles selon la norme NF T90-431.

Dès réception des résultats de ce prélèvement, un rapport global sur l'incident est transmis à l'inspection des installations classées. L'analyse des risques est jointe au rapport d'incident. Le rapport précise l'ensemble des mesures de vidange, nettoyage et désinfection mises en œuvre, ainsi que les actions correctives définies et leur calendrier de mise en œuvre.

d) Les prélèvements et les analyses en *Legionella specie* selon la norme NF T90-431 sont ensuite effectués tous les quinze jours pendant trois mois.

En cas de dépassement de la concentration de 10 000 unités formant colonies par litre d'eau sur un des prélèvements prescrits ci-dessus, l'installation est à nouveau arrêtée dans les meilleurs délais et l'ensemble des actions prescrites ci-dessus sont renouvelées.

e) Dans le cas des installations dont l'arrêt immédiat présenterait des risques importants pour le maintien de l'outil ou la sécurité de l'installation et des installations associées, la mise en œuvre de la procédure d'arrêt sur plusieurs jours pourra être stoppée, sous réserve qu'il n'y ait pas d'opposition du préfet à la poursuite du fonctionnement de l'installation de refroidissement, si le résultat selon la norme NF T90-431 d'un prélèvement effectué pendant la mise en œuvre de la procédure d'arrêt est inférieur à 100 000 unités formant colonies par litre d'eau.

La remise en fonctionnement de l'installation de refroidissement ne dispense pas l'exploitant de la réalisation de l'analyse de risques, de la mise en œuvre d'une procédure de nettoyage et désinfection, et du suivi de son efficacité. Les prélèvements et les analyses en *Legionella specie* selon la norme NF T90-431 sont ensuite effectués tous les huit jours pendant trois mois.

En fonction des résultats de ces analyses, l'exploitant met en œuvre les dispositions suivantes :

– en cas de dépassement de la concentration de 10 000 unités formant colonies par litre d'eau, l'exploitant réalise ou renouvelle les actions prévues au point 1.*b* du présent article et soumet ces éléments à l'avis d'un tiers expert dont le rapport est transmis à l'inspection des installations classées dans le mois suivant la connaissance du dépassement de la concentration de 10 000 unités formant colonies par litre d'eau ;
– en cas de dépassement de la concentration de 100 000 unités formant colonies par litre d'eau, l'installation est arrêtée dans les meilleurs délais et l'exploitant réalise l'ensemble des actions prescrites aux points 1 *a* à 1 *c* du présent article.

Le préfet pourra autoriser la poursuite du fonctionnement de l'installation, sous réserve que l'exploitant mette immédiatement en œuvre des mesures compensatoires soumises à l'avis d'un tiers expert choisi après avis de l'inspection des installations classées. Le préfet sur proposition de l'inspection des installations classées prescrira la réalisation d'un réexamen de la conception de l'installation tel que prévu au point 2 de l'article 14 afin d'améliorer la prévention du risque légionellose.

2. *Actions à mener si la concentration mesurée en* Legionella specie *est supérieure ou égale à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau et inférieure à 100 000 unités formant colonies par litre d'eau.*

Si les résultats d'analyses réalisées en application de l'ensemble des dispositions qui précèdent mettent en évidence une concentration en *Legionella specie* selon la norme NF T90-431 supérieure ou égale à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau et inférieure à 100 000 unités formant colonies par litre d'eau, l'exploitant prend des dispositions pour nettoyer et désinfecter l'installation de façon à s'assurer d'une concentration en *Legionella specie* inférieure à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau.

La vérification de l'efficacité du nettoyage et de la désinfection est réalisée par un prélèvement selon la norme NF T90-431 dans les deux semaines consécutives à l'action corrective.

Le traitement et la vérification de l'efficacité du traitement sont renouvelés tant que la concentration mesurée en *Legionella specie* est supérieure ou égale à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau et inférieure à 100 000 unités formant colonies par litre d'eau.

A partir de trois mesures consécutives indiquant des concentrations supérieures à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau, l'exploitant devra procéder à l'actualisation de l'analyse méthodique des risques de développement des légionelles dans l'installation, prévue à l'article 6, en prenant notamment en compte la conception de l'installation, sa conduite, son entretien, son suivi. L'analyse des risques doit permettre de définir les actions correctives visant à réduire le risque de développement des légionelles et de planifier la mise en œuvre des moyens susceptibles de réduire ces risques. Le plan d'actions correctives, ainsi que la méthodologie mise en œuvre pour analyser cet incident sont joints au carnet de suivi.

L'exploitant tient les résultats des mesures et des analyses de risques effectuées à la disposition de l'inspection des installations classées.

3. *Actions à mener si le résultat de l'analyse selon la norme NF T90-431 rend impossible la quantification de* Legionella specie *en raison de la présence d'une flore interférente.*

Sans préjudice des dispositions prévues aux points 1 et 2, si le résultat de l'analyse selon la norme NF T90-431 rend impossible la quantification de *Legionella specie* en raison de la présence d'une flore interférente, l'exploitant prend des dispositions pour nettoyer et désinfecter l'installation de façon à s'assurer d'une concentration en *Legionella specie* inférieure à 1 000 unités formant colonies par litre d'eau.

Art. 10. – Si un ou des cas de légionellose sont découverts par les autorités sanitaires dans l'environnement de l'installation, sur demande de l'inspection des installations classées :

- l'exploitant fera immédiatement réaliser un prélèvement par un laboratoire répondant aux conditions prévues à l'article 8.3, auquel il confiera l'analyse des légionelles selon la norme NF T90-431 ;
- l'exploitant analysera les caractéristiques de l'eau en circulation au moment du prélèvement ;
- l'exploitant procédera à un nettoyage et une désinfection de l'installation et analysera les caractéristiques de l'eau en circulation après ce traitement ;
- l'exploitant chargera le laboratoire d'expédier toutes les colonies isolées au Centre national de référence des légionelles (CNR de Lyon), pour identification génomique des souches de légionelles.

Art. 11. – L'exploitant reporte toute intervention réalisée sur l'installation dans un carnet de suivi qui mentionne :

- les volumes d'eau consommés mensuellement ;
- les périodes de fonctionnement et d'arrêt ;
- les opérations de vidange, nettoyage et désinfection (dates/nature des opérations/identification des intervenants/nature et concentration des produits de traitement/conditions de mise en œuvre) ;
- les fonctionnements pouvant conduire à créer temporairement des bras morts ;
- les vérifications et interventions spécifiques sur les dévésiculeurs ;
- les modifications apportées aux installations ;
- les prélèvements et analyses effectuées : concentration en légionelles, température, conductivité, pH, TH, TAC, chlorures, etc.

Sont annexés aux carnets de suivi :

- le plan des installations, comprenant notamment le schéma de principe à jour des circuits de refroidissement, avec identification du lieu de prélèvement pour analyse, des lieux d'injection des traitements chimiques ;
- les procédures (plan de formation, plan d'entretien, plan de surveillance, arrêt immédiat, actions à mener en cas de dépassement de seuils, méthodologie d'analyse de risques, etc.) ;
- les bilans périodiques relatifs aux résultats des mesures et analyses ;
- les rapports d'incident ;
- les analyses de risques et actualisations successives ;
- les notices techniques de tous les équipements présents dans l'installation.

Le carnet de suivi et les documents annexés sont tenus à la disposition de l'inspection des installations classées.

Art. 12. – Les résultats des analyses de suivi de la concentration en légionelles sont adressés par l'exploitant à l'inspection des installations classées sous forme de bilans annuels.

Ces bilans sont accompagnés de commentaires sur :

– les éventuelles dérives constatées et leurs causes, en particulier lors des dépassements du seuil de 1 000 unités formant colonies par litre d'eau en *Legionella specie* ;

– les actions correctives prises ou envisagées ;

– les effets mesurés des améliorations réalisées.

Le bilan de l'année N – 1 est établi et transmis à l'inspection des installations classées pour le 30 avril de l'année N.

Art. 13. – Dans le mois qui suit la mise en service, puis au minimum tous les deux ans, l'installation fait l'objet d'un contrôle par un organisme agréé au titre de l'article 40 du décret du 21 septembre 1977 susvisé. L'agrément est délivré par le ministère chargé des installations classées à un organisme compétent dans le domaine de la prévention des légionelles. L'accréditation au titre des annexes A, B ou C de la norme NF EN 45004 par le Comité français d'accréditation (COFRAC) ou tout autre organisme d'accréditation équivalent européen, signataire de l'accord multilatéral pris dans le cadre de la coordination européenne des organismes d'accréditation pourra constituer une justification de cette compétence.

La fréquence de contrôle est annuelle pour les installations concernées par l'article 7 du présent arrêté. En outre, pour les installations dont un résultat d'analyses présente un dépassement du seuil de concentration en légionelles supérieur ou égal à 100 000 UFC/l d'eau selon la norme NF T90-431, un contrôle est réalisé dans les 12 mois qui suivent.

Ce contrôle consiste en une visite de l'installation, une vérification des conditions d'implantation et de conception et des plans d'entretien et de surveillance de l'ensemble des procédures associées à l'installation, et de la réalisation des analyses de risques.

L'ensemble des documents associés à l'installation (carnet de suivi, descriptif des installations, résultats d'analyses physico-chimiques et microbiologiques, bilans périodiques, procédures associées à l'installation, analyses de risques, plans d'actions...) sont tenus à la disposition de l'organisme.

A l'issue de chaque contrôle, l'organisme établit un rapport adressé à l'exploitant de l'installation contrôlée. Ce rapport mentionne les non-conformités constatées et les points sur lesquels des mesures correctives ou préventives peuvent être mises en œuvre.

L'exploitant tient le rapport à la disposition de l'inspection des intallations classées.

Art. 14. – 1. *Révision de l'analyse de risques.*

Au moins une fois par an, l'analyse méthodique des risques telle que prévue à l'article 6 est revue par l'exploitant. Cette révision s'appuie notamment sur les conclusions de la vérification menée en application de l'article 13 et sur l'évolution des meilleures technologies disponibles.

Sur la base de la révision de l'analyse des risques, l'exploitant revoit les procédures mises en place dans le cadre de la prévention du risque légionellose et planifie, le cas échéant, les travaux décidés.

Les conclusions de cet examen, ainsi que les éléments nécessaires à sa bonne réalisation (méthodologie, participants, risques étudiés, mesures de prévention, suivi des indicateurs de surveillance, conclusions du contrôle de l'organisme agréé), sont tenus à la disposition de l'inspection des installations classées.

2. *Révision de la conception de l'installation.*

Le préfet sur proposition de l'inspection des installations classées pourra prescrire la réalisation d'un réexamen de la conception de l'installation afin d'améliorer la prévention du risque légionellose.

Art. 15. – Sans préjudice des dispositions du code du travail, l'exploitant met à disposition des personnels intervenant à l'intérieur ou à proximité de l'installation, et susceptibles d'être exposés par voie respiratoire aux aérosols, des équipements individuels de protection adaptés ou conformes aux normes en vigueur lorsqu'elles existent (masque pour aérosols biologiques, gants...), destinés à les protéger contre l'exposition :

– aux aérosols d'eau susceptibles de contenir des germes pathogènes ;

– aux produits chimiques.

Un panneau, apposé de manière visible, devra signaler l'obligation du port de masque.

Le personnel intervenant sur l'installation ou à proximité de la tour de refroidissement doit être informé des circonstances susceptibles de les exposer aux risques de contamination par les légionelles et de l'importance de consulter rapidement un médecin en cas de signes évocateurs de la maladie.

L'ensemble des documents justifiant l'information des personnels est tenu à la disposition de l'inspection des installations classées et de l'inspection du travail.

TITRE III

PRÉVENTION DE LA POLLUTION DES EAUX

Art. 16. – 1. *Prélèvements.*

Les installations de prélèvement d'eau dans le milieu naturel doivent être munies de dispositifs de mesure totalisateurs de la quantité d'eau prélevée. Ces mesures sont régulièrement relevées et le résultat doit être enregistré et tenu à la disposition de l'inspection des installations classées.

Le raccordement à une nappe d'eau ou au réseau de distribution d'eau potable doit être muni d'un dispositif évitant en toute circonstance le retour d'eau pouvant être polluée.

L'usage du réseau d'eau incendie est strictement réservé aux sinistres et aux exercices de secours, et aux opérations d'entretien ou de maintien hors gel de ce réseau.

2. *Qualité de l'eau d'appoint.*

L'eau d'appoint respecte au niveau du piquage les critères microbiologiques et de matières en suspension suivants :

Legionella sp < seuil de quantification de la technique normalisée utilisée.

Numération de germes aérobies revivifiables à 37° C < 1 000 germes/ml.

Matières en suspension : < 10 mg/l.

Lorsque ces qualités ne sont pas respectées, l'eau d'appoint fera l'objet d'un traitement permettant l'atteinte des objectifs de qualité ci-dessus. Dans ce cas, le suivi de ces paramètres sera réalisé au moins deux fois par an dont une pendant la période estivale.

3. *Consommation.*

Toutes dispositions doivent être prises pour limiter la consommation d'eau.

4. *Réseau de collecte.*

Le réseau de collecte doit être de type séparatif permettant d'isoler les eaux résiduaires polluées des eaux pluviales non susceptibles d'être polluées. Les points de rejet des eaux résiduaires doivent être en nombre aussi réduit que possible.

Ils doivent être aménagés pour permettre un prélèvement aisé d'échantillons et l'installation d'un dispositif de mesure du débit.

5. *Mesure des volumes rejetés.*

La quantité d'eau rejetée doit être mesurée journellement ou, à défaut, évaluée à partir d'un bilan matière sur l'eau, tenant compte notamment de la mesure des quantités d'eau prélevées dans le réseau de distribution publique ou dans le milieu naturel.

6. *Valeurs limites de rejet.*

Sans préjudice de l'autorisation de déversement dans le réseau public (art. L. 1331-10 du code de la santé publique), les rejets d'eaux résiduaires doivent faire l'objet, en tant que de besoin, d'un traitement permettant de respecter les valeurs limites suivantes, contrôlées, sauf stipulation contraire de la norme, sur effluent brut non décanté et non filtré, sans dilution préalable ou mélange avec d'autres effluents :

a) Dans tous les cas, avant rejet au milieu naturel ou dans un réseau d'assainissement collectif :

Le pH (NF T90-008) doit être compris entre 5,5 et 9,5 et la température des effluents doit être inférieure à 30 °C.

Le préfet peut autoriser une température plus élevée en fonction des contraintes locales.

b) Dans le cas de rejet dans un réseau d'assainissement collectif muni d'une station d'épuration, lorsque le flux maximal apporté par l'effluent est susceptible de dépasser 15 kg/j de MEST ou 15 kg/j de DBO_5 ou 45 kg/j de DCO :

Matières en suspension (NF T90-105) : 600 mg/l.

DCO (NF T90-101) : 2 000 mg/l (*).

DBO_5 (NF T90-103) : 800 mg/l.

(*) Cette valeur limite n'est pas applicable lorsque l'autorisation de déversement dans le réseau public prévoit une valeur supérieure.

c) Dans le cas de rejet dans le milieu naturel (ou dans un réseau d'assainissement collectif dépourvu de station d'épuration) :

Matières en suspension (NF T90-105) : la concentration ne doit pas dépasser 100 mg/l si le flux journalier n'excède pas 15 kg/j, 35 mg/l au-delà.

DCO (NF T90-101) : la concentration ne doit pas dépasser 300 mg/l si le flux journalier n'excède pas 100 kg/j, 125 mg/l au-delà.

DBO_5 (NF T90-103) : la concentration ne doit pas dépasser 100 mg/l si le flux journalier n'excède pas 30 kg/j, 30 mg/l au-delà.

Dans tous les cas, les rejets doivent être compatibles avec la qualité ou les objectifs de qualité des cours d'eau.

d) Polluants spécifiques : avant rejet dans le milieu naturel ou dans un réseau d'assainissement collectif urbain :

- les concentrations en chrome hexavalent (NF T90-112), en cyanures (ISO 6703/2) et tributylétain doivent être inférieures au seuil de détection de ces polluants ;
- la concentration en AOX (ISO 9562) doit être inférieure ou égale à 1 mg/l si le flux est supérieur à 30 g/j ;
- la concentration en métaux totaux (NF T90-112) doit être inférieure ou égale à 15 mg/l si le flux est supérieur à 100 g/j.

Ces valeurs limites doivent être respectées en moyenne quotidienne. Aucune valeur instantanée ne doit dépasser le double des valeurs limites de concentration.

7. *Interdiction des rejets en nappe.*

Le rejet direct ou indirect même après épuration d'eaux résiduaires dans une nappe souterraine est interdit.

8. *Surveillance par l'exploitant de la pollution rejetée.*

L'exploitant met en place un programme de surveillance, adapté aux flux rejetés, des paramètres suivants : pH, température, MES et AOX.

Une mesure des concentrations des différents polluants visés au point 6 du présent article doit être effectuée au moins tous les 3 ans par un organisme agréé par le ministre de l'environnement. Ces mesures sont effectuées sur un échantillon représentatif du fonctionnement sur une journée de l'installation et constitué soit par un prélèvement continu d'une demi-heure, soit par au moins deux prélèvements instantanés espacés d'une demi-heure.

En cas d'impossibilité d'obtenir un tel échantillon, une évaluation des capacités des équipements d'épuration à respecter les valeurs limites est réalisée.

Une mesure du débit est également réalisée, ou estimée à partir des consommations, si celui-ci est supérieur à 10 m^3/j.

Les polluants visés au point 6 du présent article qui ne sont pas susceptibles d'être émis dans l'installation ne font pas l'objet des mesures périodiques prévues au présent point. Dans ce cas, l'exploitant tient à la disposition de l'inspection des installations classées les éléments techniques permettant d'attester l'absence d'émission de ces produits dans l'installation.

TITRE IV

MODALITÉS D'APPLICATION

Art. 17. – I. – Les dispositions du présent arrêté s'appliquent aux installations dont le premier arrêté d'autorisation interviendra après le 1er juillet 2005, ainsi qu'aux modifications ou extensions d'installations autorisées postérieurement à la même date et qui entraînent une augmentation de plus de 20 % de la puissance maximale évacuée des installations visées par le présent arrêté, à l'exception des dispositions prévues au point 3 de l'article 8 et à l'article 13, qui s'appliqueront dans un délai de un an à compter de la publication du présent arrêté.

II. – Les autres installations sont soumises aux dispositions du présent arrêté dans un délai de quatre mois à compter de la publication du présent arrêté au *Journal officiel,* à l'exception :

- des articles 3 et 4 ;
- des dispositions prévues au point 3 de l'article 8 et à l'article 13, qui s'appliqueront dans un délai de un an à compter de la publication du présent arrêté.

III. – Jusqu'à l'entrée en vigueur des dispositions du présent arrêté, les installations existantes doivent respecter les prescriptions qui leur ont été imposées.

Art. 18. – Sont abrogées, à la date d'entrée en vigueur des dispositions du présent arrêté, les dispositions suivantes :

- l'article 33 de l'arrêté du 20 juin 2002 relatif aux chaudières présentes dans une installation nouvelle ou modifiée d'une puissance supérieure à 20 MWth ;
- l'article 80 de l'arrêté du 12 mars 2003 relatif à l'industrie du verre et de la fibre minérale ;
- l'article 47 de l'arrêté du 30 juillet 2003 relatif aux chaudières présentes dans des installations existantes de combustion d'une puissance supérieure à 20 MWth ;
- l'article 8 de l'arrêté du 30 avril 2004 relatif aux prescriptions applicables aux installations classées pour la protection de l'environnement soumises à autorisation sous la rubrique n° 2210 « abattage d'animaux » ;
- du point 3.7 de l'annexe 1 de l'arrêté du 16 juillet 2003 relatif aux prescriptions générales applicables aux installations classées soumises à déclaration sous la rubrique n° 2450 relative aux imprimeries ou ateliers de reproduction graphique sur tout support tel que métal, papier, carton, matières plastiques, textiles, etc., utilisant une forme imprimante ;
- du point 3.7 de l'annexe 1 de l'arrêté du 30 avril 2004 relatif aux prescriptions générales applicables aux installations classées soumises à déclaration sous la rubrique n° 2210 relative à l'abattage des animaux ;

– du point 3.7 de l'annexe 1 de l'arrêté du 21 juin 2004 relatif aux prescriptions générales applicables aux installations classées soumises à déclaration sous la rubrique n° 2564 relative au nettoyage, dégraissage, décapage de surfaces (métaux, matières plastiques, etc.) par des procédés utilisant des liquides organohalogénés ou des solvants organiques ;
– du point 3.7 de l'annexe 1 de l'arrêté du 13 octobre 2004 relatif aux prescriptions générales applicables aux installations classées soumises à déclaration sous la rubrique n° 2685 relative aux médicaments à usage humain ou vétérinaire (fabrication et division en vue de la préparation de).

Art. 19. – Le directeur de la prévention des pollutions et des risques est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 13 décembre 2004.

Pour le ministre et par délégation :
Le directeur de la prévention des pollutions et des risques, délégué aux risques majeurs,
T. TROUVÉ

Annexe C :
Caractéristiques du réacteur UV

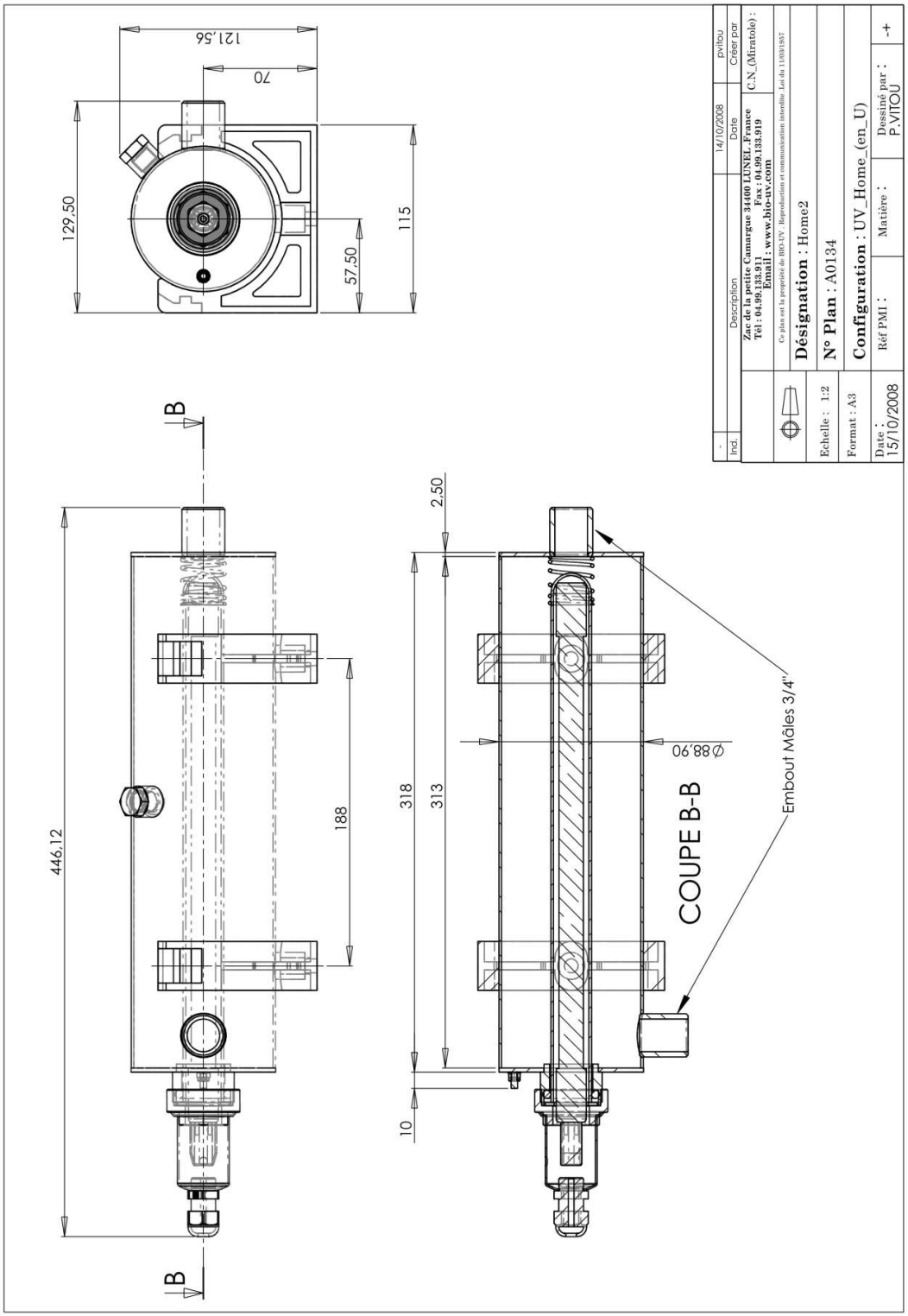
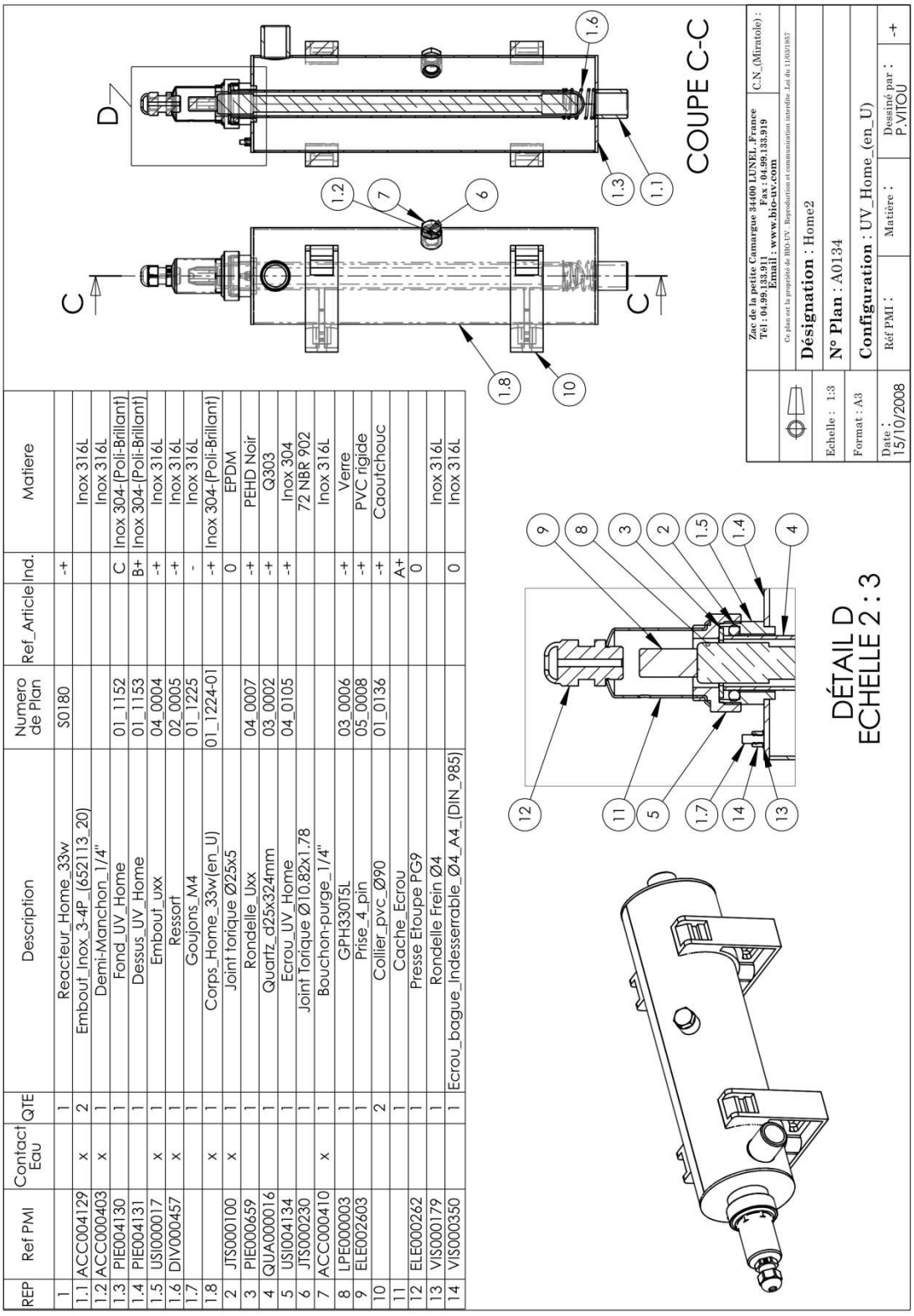


Figure A.2 : Configuration du réacteur UV (Partie 1)



REP	Ref PMI	Contact Eau	QTE	Description	Numero de Plan	Ref_Article	Ind.	Matiere
1			1	Reacteur_Home_33w	S0180		-+	
1.1	ACC004129	x	2	Embout_Inox_3-4P_(652113_20)				Inox 316L
1.2	ACC000403	x	1	Demi-Manchon_1/4"				Inox 316L
1.3	PIE004130		1	Fond_UV_Home	01_1152		C	Inox 304-(Poli-Brillant)
1.4	PIE004131		1	Dessus_UV_Home	01_1153		B+	Inox 304-(Poli-Brillant)
1.5	USI000017	x	1	Embout_uxx	04_0004		-+	Inox 316L
1.6	DIV000457	x	1	Ressort	02_0005		-+	Inox 316L
1.7			1	Goujons_M4	01_1225		-	Inox 316L
1.8		x	1	Corps_Home_33w(en_U)	01_1224-01		-+	Inox 304-(Poli-Brillant)
2	JTS000100	x	1	Joint torique Ø25x5			0	EPDM
3	PIE000659		1	Rondelle_Uxx	04_0007		-+	PEHD Noir
4	QUA000016		1	Quartz_d25x324mm	03_0002		-+	Q303
5	USI004134		1	Ecrou_UV_Home	04_0105		-+	Inox 304
6	JTS000230		1	Joint Torique Ø10.82x1.78				72 NBR 902
7	ACC000410	x	1	Bouchon-purge_1/4"				Inox 316L
8	LPE000003		1	GPH330T5L	03_0006		-+	Verre
9	ELE002603		1	Prise_4_pin	05_0008		-+	PVC rigide
10			2	Collier_pvc_Ø90	01_0136		-+	Caoutchouc
11			1	Cache_Ecrou			A+	
12	ELE000262		1	Presse Etoupe PG9			0	
13	VIS000179		1	Rondelle Frein Ø4				Inox 316L
14	VIS000350		1	Ecrou_bague_Indesserrable_Ø4_A4_(DIN_985)			0	Inox 316L

Figure A.3 : Configuration du réacteur UV (Partie 2)

Annexe D :
Eau de consommation du Bourget-du-Lac

A. Origine

L'Université de Savoie se trouve sur le site de Technolac, à côté de la commune du Bourget-du-Lac. Ce site est potentiellement alimenté en eau par 3 sources différentes (Figure A.4) :

- La Roche Saint Alban, source du Bourget-du-Lac (Mont du Chat).
- Le Puits des Iles, nappe souterraine de la Motte Servolex.
- La source des Creux, source de la Motte Servolex.

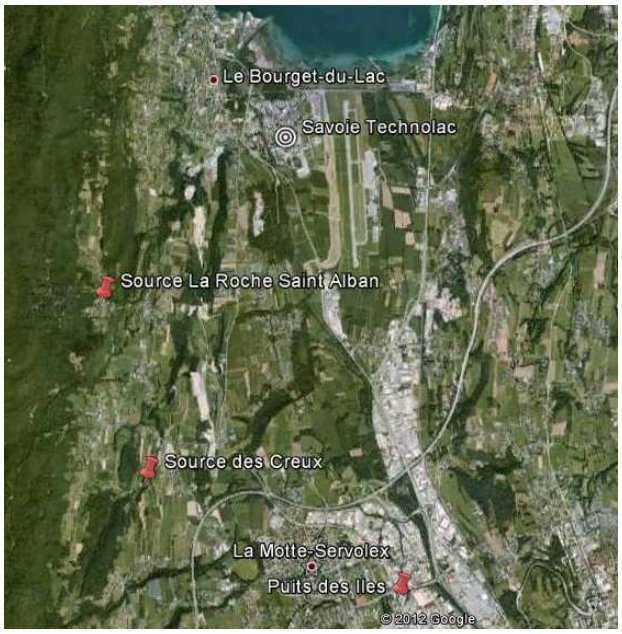


Figure A.4 : Situation des sources d'alimentation en eau du site de Savoie Technolac

L'alimentation principale du site est la source de la Roche Saint Alban pour 90% du temps. Une différence de conductivité permet de différencier les eaux provenant de la Roche Saint Alban des deux autres sources. Les conductivités mesurées sont de l'ordre de :

- 300 $\mu S.cm^{-1}$ pour La Roche Saint Alban,
- 600 $\mu S.cm^{-1}$ pour Le Puits des Iles et La Source des Creux.

B. Traitement

L'eau captée à la Roche Saint Alban reçoit un traitement UV combiné à l'injection de chlore (depuis avril 2009). Le cheminement de l'eau de son point de captage jusqu'aux unités de distribution de Technolac passe par plusieurs réservoirs (Figure A.5) :

- Le réservoir de la Roche où l'eau subit un traitement au chlore gazeux (résiduel de 0,3 ppm de chlore) avant une filtration et un traitement de désinfection par les ultraviolets.
- Le réservoir des Combes où un nouvel ajout de chlore est réalisé (résiduel de 0,2 ppm de chlore).
- Le réservoir des Timonières,
- Le réservoir de la Base où l'eau reçoit un nouvel ajout de chlore (résiduel de 0,1 ppm de chlore).

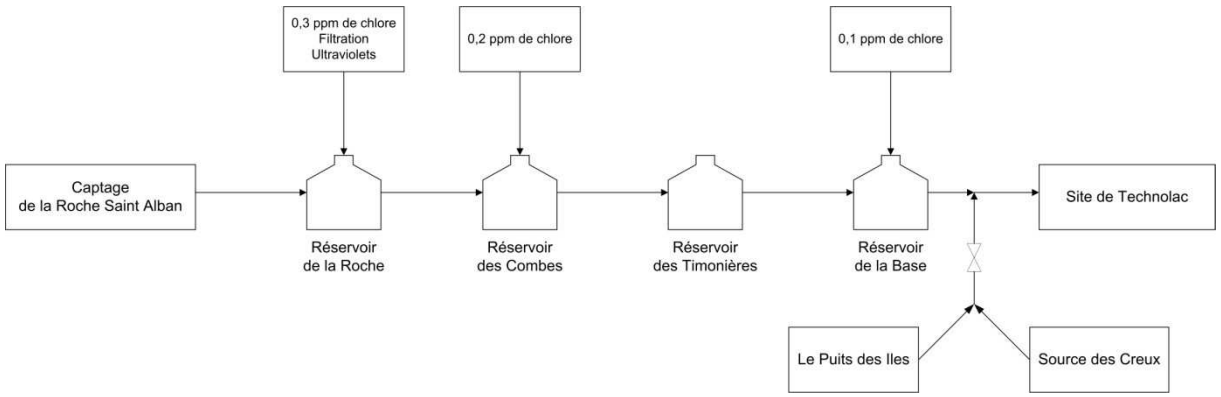


Figure A.5 : Réseau d'alimentation en eau potable du site de Technolac

C. Caractéristiques

L'ensemble des caractéristiques principales de l'eau captée à La Roche Saint Alban ainsi que l'eau distribuée sur le site de Savoie Technolac (analyses réglementaires) sont reprises dans le Tableau A.1.

Tableau A.1 : Caractéristiques de l'eau du réseau de Savoie Technolac (Données Chambéry Métropole)

Paramètres	Unités	Captage	Unité de distribution
		La Roche Saint Alban	Site de Technolac
Traitement		Aucun	UV + Cl_2
MESURES TERRAIN			
Aspect	-	Acceptable	Acceptable
Couleur	-	Acceptable	Acceptable
Odeur	-	Acceptable	Acceptable
pH	Unité pH	8,00	8,05
PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES			
Conductivité (25°C)	$\mu S.cm^{-1}$	309	285
Turbidité	NFU	0,58	0,58
Carbone Organique Total	$mg.L^{-1}$	0,95	/(*)
Titre Hydrotimétrique	°F	16,4	/
Titre Alcalimétrique	°F	< 2	/
Titre Alcalimétrique Complet	°F	15,9	/
PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES			
Bactéries aérobies revivifiables à 22°C	$ufc.mL^{-1}$	56	< 1
Bactéries aérobies revivifiables à 36°C	$ufc.mL^{-1}$	214	< 1
Coliformes totaux	ufc/ 100 mL	12	< 1
Escherichia coli	ufc/ 100 mL	8	< 1
Entérocoques instestinaux	ufc/ 100 mL	3	< 1
RESIDUEL TRAITEMENT DE DESINFECTION			
Chlore libre	$mg.L^{-1}$	-	0,05
Chlore total	$mg.L^{-1}$	-	0,12

(*) « / » signifie que la mesure n'est pas connue

Annexe E : Valeurs absolues et abattements des paramètres microbiologiques (essais en laboratoire)

Le Tableau A.2 regroupe l'ensemble des valeurs absolues des paramètres microbiologiques rencontrées lors des essais réalisés sur le pilote de laboratoire, aussi bien pour les biofilms (en noir) que l'eau (en bleu), pour la référence (R) et l'essai associé (E).

Tableau A.2 : Valeurs absolues initiales – finales et abattement selon les paramètres microbiologiques et le traitement appliqué

Biofilms / Eau		ATP (pmol.mL^{-1} ou cm^{-2})			Bactéries cultivables (ufc.mL^{-1} ou cm^{-2})			Bactéries totales bactéries.mL^{-1} ou cm^{-2})		
		Initial	Final	Abatte-ment	Initial	Final	Abatte-ment	Initial	Final	Abatte-ment
UV	**R**	8,5 ± 0,8 5,3 ± 2,5		/	(7,3 ± 1,7).10^5 (2,8 ± 1,1).10^5		/	(1,6 ± 0,1).10^7 (5,8 ± 0,8).10^6		/
	E	8,4 ± 1,5 1,3 ± 0,2	9,2 ± 3,3 1,6 ± 0,8	**+ 8,3%** **+ 22,6%**	(4,3 ± 0,2).10^5 (2,0 ± 1,4).10^5	(21,5 ± 6,1).10^5 (0,6 ± 0,1).10^5	**+ 73,9%** **- 72,4%**	(0,9 ± 0,1).10^7 (2,1 ± 0,4).10^6	(2,5 ± 0,2).10^7 (0,7 ± 0,1).10^6	**+ 63,7%** **- 68,9%**
H_2O_2 50 mg.L^{-1}	**R**	0,6 ± 0,2		/	(6,7 ± 1,9).10^4			(1,6 ± 0,3).10^6		/
	E	0,8 ± 0,1	0,08 ± 0,05	**- 90,7%**	(3,4 ± 3,2).10^4	(0,1 ± 1,1).10^4	**- 96,8%**	(7,5 ± 1,1).10^5	(2,5 ± 0,7).10^5	**- 66,5%**
H_2O_2 30 mg.L^{-1}	**R**	26,0 ± 6,6 9,7 ± 2,6		/	(9,8 ± 4,0).10^5 (3,3 ± 1,0).10^5		/	(2,2 ± 1,1).10^7 (2,3 ± 0,4).10^5		/
	E	18,6 ± 7,0 5,1 ± 5,3	1,3 ± 0,4 108,8 ± 60,3	**- 92,9%** **+ 95,3%**	(3,3 ± 0,5).10^5 (5,0 ± 1,4).10^5	(1,3 ± 0,6).10^5 (8,3 ± 2,0).10^5	**- 60,2%** **+ 78,2%**	(9,0 ± 8,4).10^6 (2,1 ± 0,1).10^6	(3,7 ± 0,4).10^6 (2,7 ± 0,3).10^6	**- 59,0%** **+ 23,6%**
H_2O_2/UV 50 mg.L^{-1}	**R**	1,5 ± 0,7		/	(5,6 ± 2,8).10^4			(2,8 ± 0,2).10^6		/
	E	3,1 ± 0,6	0,03 ± 0,02	**- 99,1%**	(3,8 ± 1,6).10^5	(1,4 ± 1,0).10^1	**- 100,0%**	(6,1 ± 0,2).10^6	(0,5 ± 0,2).10^6	**- 92,3%**
H_2O_2/UV 30 mg.L^{-1}	**R**	3,2 ± 1,4 4,8 ± 2,4		/	(1,5 ± 0,5).10^5 (2,0 ± 0,6).10^5		/	(2,0 ± 0,6).10^6 (2,7 ± 0,5).10^5		/
	E	1,7 ± 1,3 18,1 ± 8,3	0,4 ± 0,2 0,2 ± 0,1	**- 75,6%** **- 99,1%**	(1,8 ± 0,5).10^5 (5,0 ± 0,0).10^5	(8,9 ± 4,9).10^2 (3,0 ± 1,3).10^3	**- 99,5%** **- 99,4%**	(1,3 ± 0,1).10^6 (3,0 ± 0,2).10^6	(0,7 ± 0,1).10^6 (0,7 ± 0,2).10^6	**-42,0%** **- 77,0%**
H_2O_2/UV 10 mg.L^{-1}	**R**	10,8 ± 3,6 21,4 ± 12,2		/	(4,4 ± 1,9).10^5 (1,7 ± 0,7).10^5		/	(6,2 ± 0,9).10^6 (2,8 ± 0,4).10^6		/
	E	21,6 ± 6,6 12,5 ± 0,8	9,3 ± 5,0 0,7 ± 0,3	**- 56,9%** **- 94,3%**	(4,8 ± 1,6).10^5 (3,4 ± 0,6).10^5	(2,6 ± 1,7).10^6 (7,9 ± 3,5).10^3	**+ 81,2%** **- 97,6%**	(4,5 ± 0,4).10^7 (1,9 ± 0,2).10^6	(0,2 ± 0,1).10^7 (0,5 ± 0,1).10^6	**-94,8%** **-78,2%**

R = référence (valeur moyenne), E = essai

Annexe F :
Eau de consommation de Grenoble

A. Origine

Le Conseil général de l'Isère – se trouvant dans la ville de Grenoble – est alimenté en eau par le site de Rochefort, se situant sur la commune de Varces-Allières et Risset, située au sud de Grenoble (Figure A.6).

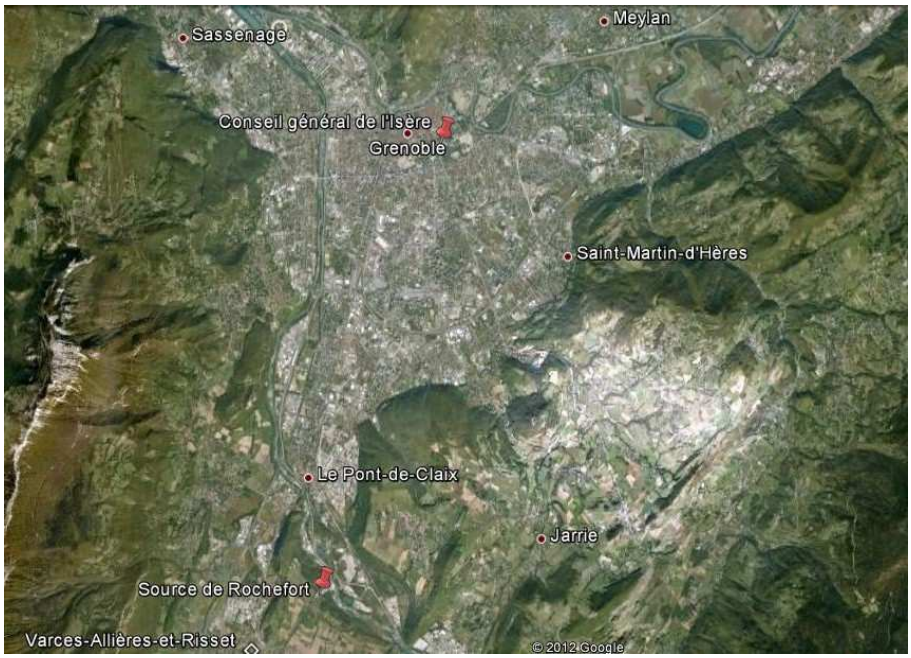


Figure A.6 : Situation de la source d'alimentation de Grenoble

Cette eau provient de la nappe d'accompagnement du Drac. Elle est filtrée naturellement par les alluvions et ne reçoit aucun traitement. Les puits exploités pour le prélèvement de cette eau sont des puits à drains rayonnants pour 3 d'entre eux, les deux autres – dits de secours – sont de simples puits à barbacane.

B. Caractéristiques

L'ensemble des caractéristiques de l'eau captée à Rochefort ainsi que l'eau distribuée dans le secteur où se trouve le Conseil général (analyses réglementaires) sont reprises dans le Tableau A.3.

Tableau A.3 : Caractéristiques de l'eau du réseau de Grenoble (Données Régie des Eaux de Grenoble)

Paramètres	Unités	Captage	Unité de distribution
		Rochefort	Conseil général
Traitement		Aucun	Aucun
MESURES TERRAIN			
Aspect	-	Normale	Normale
Couleur	-	Normale	Normale
Odeur	-	Normale	Normale
pH	Unité pH	7,70	7,65
PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES			
Conductivité (25°C)	$\mu S.cm^{-1}$	370	436
Turbidité	NFU	< 0,10	< 0,10
Carbone Organique Total	$mg.L^{-1}$	< 0,30	/
Titre Hydrotimétrique	°F	19,0	/
Titre Alcalimétrique	°F	/	/
Titre Alcalimétrique Complet	°F	12,9	/
PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES			
Bactéries aérobies revivifiables à 22°C	$ufc.mL^{-1}$	< 1	1
Bactéries aérobies revivifiables à 36°C	$ufc.mL^{-1}$	< 1	< 1
Coliformes totaux	ufc/ 100 mL	< 1	< 1
Escherichia coli	ufc/ 100 mL	< 1	< 1
Entérocoques instestinaux	ufc/ 100 mL	< 1	< 1

(*) « / » signifie que la mesure n'est pas connue

RESUME

Les légionelles sont un enjeu de santé publique majeur car ces bactéries sont responsables des cas de légionellose, parfois mortels. Les tours aéroréfrigérantes (TAR) peuvent être incriminées car pouvant potentiellement émettre des aérosols contaminés. Un traitement de désinfection de ces eaux est donc nécessaire. Cependant les techniques actuelles conduisent très souvent à des injections importantes de réactifs induisant des rejets écotoxiques dans l'environnement qu'il est nécessaire de limiter. L'application du traitement d'oxydation avancée H_2O_2/UV – considéré comme innovant pour ce domaine et dont l'impact environnemental est limité (décomposition du peroxyde d'hydrogène en eau et oxygène, peu de production de composés toxiques) – a prouvé son efficacité de désinfection à la fois au sein d'un pilote de laboratoire sur une eau reconstituée, chargée en microorganismes et matière organique, mais aussi lors du traitement de l'eau d'une TAR du secteur tertiaire. Les ultraviolets ont été appliqués de manière continue (10 à 22 $J.cm^{-2}$ sur le pilote ; 2 à 7 $J.cm^{-2}$ sur la TAR) avec le maintien d'un résiduel constant en peroxyde d'hydrogène (10 à 50 $mg.L^{-1}$ sur le pilote ; 3 à 10 $mg.L^{-1}$ sur la TAR). Sur le pilote de laboratoire, le traitement H_2O_2/UV a montré une efficacité supérieure à l'application des UV ou du peroxyde d'hydrogène seul. Des abattements plus importants sur les paramètres microbiologiques de l'eau et des biofilms (ATP, bactéries cultivables et totales) et une modification profonde de la matière organique (minéralisation) ont pu être observés. Il a ainsi été conservé les avantages de chaque technique (désinfection reconnue des UV et action bactéricide de H_2O_2), tout en limitant leurs inconvénients (absence de rémanence des UV, fortes concentrations nécessaires en H_2O_2) grâce à la génération de radicaux hydroxyles pouvant agir sur les microorganismes et la matière organique. L'étude sur une TAR a confirmé ces résultats et a montré de bonnes performances de désinfection en comparaison avec celles obtenues pour le dioxyde de chlore. Cependant, lors les phases d'optimisation des essais, une adaptation des bactéries au peroxyde d'hydrogène a été observée indiquant la nécessité d'un contrôle régulier de cet oxydant afin de maintenir un résiduel conséquent et d'éviter la mise en place d'une dérive du système. De plus, il a été montré que le traitement n'a eu qu'une faible action sur les produits de conditionnement de l'eau (antitartre, anticorrosion). Une rapide évaluation économique a permis de placer le couplage H_2O_2/UV dans le même ordre de grandeur que les traitements habituels.

MOTS CLES : Eaux de refroidissement, Peroxyde d'hydrogène, Ultraviolets, Désinfection, Biofilms, Tour aéroréfrigérante

ABSTRACT

Legionella is a major public health issue as they are responsible for Legionnaires' disease, which can be fatal. Cooling towers are often incriminated because of their potential emission of contaminated aerosols. A disinfection process for treating water is then necessary. However, current techniques often need high concentrations of chemical products which lead to ecotoxic releases into the environment. UV-H_2O_2 is an advanced oxidation process with a limited environmental impact (hydrogen peroxide decomposition into oxygen and water, low production of toxic compounds). It was shown that this method is an effective technique of disinfection both in a laboratory pilot on water charged with microorganisms and organic matter, and in the water treatment of a cooling tower (service sector). UV irradiation was applied continuously (10 – 22 $J.cm^{-2}$ on the pilot; 2 – 7 $J.cm^{-2}$ on the cooling tower) with a constant residual of hydrogen peroxide (10 to 50 $mg.L^{-1}$ on the pilot; 3 to 10 $mg.L^{-1}$ on the cooling tower). On the laboratory pilot, UV-H_2O_2 showed a higher efficacy than UV or hydrogen peroxide treatments applied alone. A more important reduction of microbiological parameters in water and biofilms (ATP, heterotrophic plate and total bacteria counts) and a deep change in organic matter (mineralization) were observed. The advantages of each process (both well-known UV disinfection and bactericidal action of H_2O_2) were selected by limiting their disadvantages (no residual with UV, need for high concentrations of H_2O_2) through the generation of hydroxyl radicals, acting on microorganisms and organic matter. The study on a cooling tower confirmed these results and showed good disinfection performances compared with those obtained for chlorine dioxide. However, the optimization phases of the treatment highlighted a bacterial adaptation to hydrogen peroxide. A monitoring of this oxidant is required in order to maintain a residual, and therefore to avoid a drift of the system. Besides, UV-H_2O_2 showed little effect on scale and corrosion inhibitors. A rapid economic assessment allowed to placing UV-H_2O_2 in the same order of magnitude as usual treatments.

KEYWORDS: Cooling water, Hydrogen Peroxide, Ultraviolet, Disinfection, Biofilms, Cooling tower