

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

INFLUENCE DE LA TURBIDITÉ SUR L'EFFICACITÉ DE LA DÉSINFECTION
PAR RAYONS UV PAR L'ANALYSE DE LA CINÉTIQUE D'INACTIVATION
DE SPORES BACTÉRIENNES INDIGÈNES

GABRIEL CHEVREFILS

DÉPARTEMENT DES GÉNIES CIVIL, GÉOLOGIQUE ET DES MINES
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE CIVIL)
AOÛT 2006



Library and
Archives Canada

Bibliothèque et
Archives Canada

Published Heritage
Branch

Direction du
Patrimoine de l'édition

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

ISBN: 978-0-494-19289-4

Our file Notre référence

ISBN: 978-0-494-19289-4

NOTICE:

The author has granted a non-exclusive license allowing Library and Archives Canada to reproduce, publish, archive, preserve, conserve, communicate to the public by telecommunication or on the Internet, loan, distribute and sell theses worldwide, for commercial or non-commercial purposes, in microform, paper, electronic and/or any other formats.

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

AVIS:

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque et Archives Canada de reproduire, publier, archiver, sauvegarder, conserver, transmettre au public par télécommunication ou par l'Internet, prêter, distribuer et vendre des thèses partout dans le monde, à des fins commerciales ou autres, sur support microforme, papier, électronique et/ou autres formats.

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

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms may have been removed from this thesis.

Conformément à la loi canadienne sur la protection de la vie privée, quelques formulaires secondaires ont été enlevés de cette thèse.

While these forms may be included in the document page count, their removal does not represent any loss of content from the thesis.

Bien que ces formulaires aient inclus dans la pagination, il n'y aura aucun contenu manquant.


Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

INFLUENCE DE LA TURBIDITÉ SUR L'EFFICACITÉ DE LA DÉSINFECTION
PAR RAYONS UV PAR L'ANALYSE DE LA CINÉTIQUE D'INACTIVATION
DE SPORES BACTÉRIENNES INDIGÈNES

présenté par : Gabriel Chevrefils

en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliqués

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

M. COMEAU Yves, Ph.D., président

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

M. BARBEAU Benoit, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. ELLIS Donald, M.Sc.A., membre

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier ma directrice de recherche Mme Michèle Prévost, titulaire de la Chaire CRSNG en eau potable, pour la confiance qu'elle m'a accordée. Je remercie également Benoît Barbeau, codirecteur de cette recherche et professeur à la chaire, pour l'aide apportée au projet et à la rédaction. Sans oublier le Professeur Pierre Payment de l'INRS – Armand-Frappier pour son aide en microbiologie et pour nous avoir permis d'utiliser son laboratoire, ainsi que les précieuses lampes UV qui s'y trouvent.

Je ne peux passer sous silence l'aide précieuse de M. Bernard Clément, professeur au département de mathématiques et de génie industriel, pour la compréhension de ce domaine complexe que sont les statistiques. Des remerciements sont également adressés à Jacinthe Mailly, associée de recherche et Julie Philibert, technicienne, toutes deux à la Chaire Industrielle CRSNG en eau potable, pour leur support technique au laboratoire.

Je remercie également le CRSNG et les partenaires industriels de la Chaire CRSNG qui ont permis la réalisation de ce projet de recherche : la Ville de Montréal, Ville Laval et John Meunier Inc.

Comme ce projet n'aurait pu être réalisé sans la collaboration du personnel des différentes usines, je tiens à remercier celui des usines de traitements d'eau potable de la MRC Des Moulins à Terrebonne, et Charles-DesBaillets à Montréal, ainsi que le personnel de la station d'épuration des eaux usées de Montréal.

Je tiens aussi à remercier mon partenaire dans ce projet, Éric Caron, étudiant à la maîtrise à la Chaire en eau potable sans qui le travail de laboratoire aurait été moins

agréable mais surtout sans qui, je n'aurais jamais connu *Pushap*, et les autres étudiants de la chaire pour le climat de travail exceptionnel au bureau des étudiants.

Finalement, je remercie énormément ma conjointe, Danielle, pour sa patience et ses encouragements.

RÉSUMÉ

L'utilisation de la lumière UV pour désinfecter l'eau potable est maintenant une technique considérée sécuritaire et efficace, particulièrement pour l'inactivation des deux parasites protozoaires d'importance, *Cryptosporidium* et *Giardia*. Il est généralement accepté que la présence de particules nuit à l'efficacité de la désinfection UV et ainsi, la grande majorité des systèmes utilisant les UV comme barrière de désinfection intègrent une étape de filtration préalablement à l'irradiation, dans le but de réduire la concentration de particules. Toutefois, l'interaction entre les microorganismes et les particules, ainsi que les impacts de la présence de ces dernières sur la désinfection UV sont peu connus. De plus, peu de modèles ont été développés pour décrire la cinétique de désinfection UV en présence de particules, particulièrement dans le domaine de l'eau potable.

Un protocole d'irradiation UV a été développé et appliqué sur des échantillons provenant d'une eau de surface de bonne qualité (fleuve St-Laurent), une eau de surface influencée par des eaux usées (rivière Des Mille-Iles) et des eaux usées (Ville de Montréal). Les échantillons ont été séparés en trois fractions. Une première fraction a été d'abord malaxée à haute vitesse (8000 rpm pendant 4 minutes) en présence d'un surfactant (100 mg/L de Zwittergent 3-12) préalablement à l'irradiation UV, réalisée grâce à des lampes monochromatiques (254 nm). Une deuxième fraction a été malaxée puis irradiée, et la dernière fraction était filtrée sur une membrane de nitrocellulose de 8µm de porosité, irradiée et ensuite malaxée à haute vitesse. Le choix de cette porosité a été fait suite à plusieurs études publiées rapportant 8µm comme étant la limite inférieure de la taille de particules permettant la protection de bactéries. De plus, les pores sont suffisamment larges pour laisser passer les spores bactériennes (1 à 2 µm) non-agrégées. L'inactivation des spores de bactéries sporulantes aérobies (BSA) indigènes a ensuite été mesurée pour chacune

de fractions de chaque échantillon. Grâce à ce protocole, l'influence des particules sur la cinétique de désinfection des spores de BSA a pu être étudiée.

Trois modèles, provenant de la littérature, ont ensuite été utilisés pour décrire les résultats obtenus suite à l'application du protocole décrit précédemment. Les modèles ont été évalués selon les critères suivants : (1) bonne corrélation et précision de la prédiction par rapport aux résultats expérimentaux; (2) simplicité relative et (3) potentiel pour une interprétation des paramètres du modèle. Les modèles utilisés sont celui de Scheible (1987), de Gehr et Wright (1998) et de Mamane-Gravetz et Linden (2005). Le modèle de Mamane-Gravetz et Linden s'est avéré être le plus approprié selon les trois critères d'évaluation utilisés.

Un modèle de Chick-Watson modifié a ensuite été utilisé pour étudier les impacts du malaxage et de la filtration sur 8 μm sur les paramètres cinétiques de désinfection. Les résultats montrent qu'aucun plafonnement de l'inactivation des spores n'est mesuré pour les échantillons d'eau de bonne qualité, contrairement à ceux provenant des autres sources. Le malaxage à haute vitesse a permis de diminuer l'agrégation causant un plafonnement d'inactivation et d'augmenter le taux d'inactivation des spores significativement, sauf pour les eaux usées. La filtration sur 8 μm a permis d'enlever complètement le plafonnement d'inactivation pour tous les échantillons, et a eu comme effet d'augmenter significativement le taux d'inactivation des spores, à l'instar du malaxage. Pour tous les échantillons, le malaxage préalable a eu comme effet d'augmenter l'inactivation obtenue, en comparaison avec l'irradiation sans malaxage préalable. Similairement, l'inactivation résultant de l'irradiation suite à la filtration sur 8 μm était, pour tous les échantillons supérieure à celle obtenue avec et sans malaxage préalable. Notons que l'absence de plafonnement dans l'eau du St-Laurent et dans les eaux filtrées sur 8 μm pourrait être due à la faible concentration de spores présentes dans ces eaux

qui ne permet d'étudier l'inactivation que dans une plage restreinte allant jusqu'à 1 ou 2 log.

Les résultats tendent à confirmer l'importance des particules de taille supérieure à 8 μm pour la présence d'un plafonnement d'inactivation. De plus, aucun plafonnement n'a été observé pour les échantillons ayant une turbidité inférieure à 10 UTN. Ainsi, les résultats présentés démontrent que la turbidité, lorsque celle-ci est inférieure à 10 UTN, n'a pas d'influence importante sur l'inactivation de bactéries sporulantes aérobies indigènes.

En appliquant un modèle linéaire sur l'ensemble des données en provenance d'une même source, il en ressort que les deux prétraitements n'ont pas d'effet significatif sur l'eau provenant du fleuve St-Laurent, résultant de la faible proportion de spores agrégées. Toutefois, les prétraitements augmentent significativement le taux d'inactivation des spores présentes dans les échantillons provenant de la rivière des Mille-Îles.

Même s'il n'est pas possible de transférer directement les conclusions provenant de l'inactivation de spores de bactéries sporulantes aérobies à *Cryptosporidium*, nous pouvons assumer qu'au moins 3 log d'inactivation du parasite seraient atteint pour 1 log de spores étant donnée la similitude dans leurs tailles respectives. Même dans une eau de surface de mauvaise qualité (Mille-Iles), un minimum d'un log de spores est conservé en doublant la dose, en présence de concentrations élevées de particules de taille $> 8 \mu\text{m}$. Ainsi, nous pouvons donc conclure que les facteurs de sécurité présentement appliqués aux fluences (ou doses UV) pour les crédits d'inactivation de *Cryptosporidium* et *Giardia* seraient probablement suffisants pour tenir compte de l'impact des particules lorsque la turbidité est inférieure à 10 UTN.

ABSTRACT

The use of UV light to disinfect drinking water is now considered a safe and efficient technique, particularly for the inactivation of the two protozoan parasites *Cryptosporidium* and *Giardia*. It is generally accepted that the presence of particles impairs UV disinfection processes. Therefore, most systems are preceded by a filtration step to reduce particle concentration. Nevertheless, the interaction between particles and microorganisms, as well the impacts of the presence of particles on UV disinfection, are not well understood. Also, very few models have been developed to describe UV inactivation kinetics in the presence of particles in drinking water.

A UV irradiation protocol has been developed and applied on samples from a high-quality surface water (St-Lawrence River), a surface water impacted by wastewaters (Mille-Îles River), and a wastewater (City of Montreal). The samples were divided in three fractions. A first fraction was blended at high speed (8000 rpm during 4 minutes) with a surfactant (100 mg/L Zwittergent 3-12) prior to monochromatic (254 nm) UV irradiation. A second fraction was blended following irradiation and the last fraction was filtered on 8µm, using a nitrocellulose membrane, prior to irradiation, and then blended. The choice of this specific pore size comes from published data showing 8µm to be the minimal particle size to offer bacterial protection. Also, the pores are large enough to let non-aggregated bacterial spores (1 à 2 µm) through. Inactivation of spores of aerobic spore-forming bacteria (SASFB) was assessed for each part of every sample. This allowed the investigation of the influence of particle on the kinetics of UV disinfection.

Three models, available from the published literature, were used to describe the results obtained from the application of the protocol described in the last paragraph. The models were evaluated in relation to the following criteria: (1) good correlation and precision of the predicted values when compared to experimental results; 2)

relative simplicity; (3) potential for an interpretation of the model parameters. The models investigated were Scheible's (1986), Gehr and Wright's (1998) and Mamane-Gravetz and Linden's (2005). This last model was found to be the most adequate in regards to the three criteria.

A parallel Chick-Watson model was then used to study in detail the impacts of blending and filtration on 8 μm on the disinfection kinetic parameters. The results showed that no tailing in inactivation of spores was present for the samples from the high-quality source water, contrarily to samples from the other source water. High-speed blending decreased the aggregation responsible for the tailing and increased the inactivation rates significantly, with the exception of the wastewater. Filtration on 8 μm removed tailing on all samples and increased significantly the inactivation rate of spores, as did blending. Blending prior to irradiation allowed for greater inactivation when compared to blending after irradiation. Filtration increased inactivation rates even more so. The absence of tailing in the St-Lawrence River's water and the water filtered on 8 μm could be the result of low spore concentration which limits the study of inactivation to 1 to 2 log.

These findings strongly suggest that particles $> 8 \mu\text{m}$ have a significant impact on the presence of tailing. Although particle distribution and turbidity are not related, no tailing was observed for samples with turbidity values under 10 NTU. Therefore, turbidity does not seem to have a significant impact on UV inactivation of spores when it is less than 10 NTU.

A linear model was applied using all the data. Results from the application of linear models to the combined data reveal significant differences (increases) between the fluence based rates associated with the raw, blended and filtered samples of the Mille-Îles River water but not from the St-Lawrence River, because of low aggregation.

The observed effects of blending and filtration on the inactivation of spores cannot be directly transferred to the prediction of inactivation of *Cryptosporidium*, but given the similarity in size, we can assume over 3 log inactivation for 1 log of spores. In the low-quality surface water (Mille-Îles), a minimum of 1 log inactivation was possible in the presence of big particles ($>8\ \mu\text{m}$) by doubling the fluence. Therefore, we can assume the safety factors presently applied to fluence (UV dose) requirements for *Cryptosporidium* and *Giardia* would be sufficient to account for particle effects when the turbidity is less than 10 NTU.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	II
RÉSUMÉ	VI
ABSTRACT.....	IX
TABLE DES MATIÈRES.....	XII
LISTE DES TABLEAUX.....	XVI
LISTE DES FIGURES	XVII
LISTE DES ANNEXES.....	XVIII
CHAPITRE 1 : INTRODUCTION	1
CHAPITRE 2 : REVUE DE LITTÉRATURE	5
2.1 La lumière UV	5
2.1.1 Description	5
2.1.2 Lampes UV	6
2.1.3 Mesure de la fluence UV	8
2.1.4 Inconvénients de la désinfection UV	9
2.1.5 Mécanismes d'inactivation et mécanismes de réparation microbiens	10
2.2 L'impact des particules sur l'efficacité de procédés de désinfection UV.....	14
2.2.1 L'impact de la matière en suspension présente en eaux usées sur l'inactivation de bactéries coliformes	14
2.2.2 Particules et désinfection UV de l'eau potable	15

2.3 Les spores de bactéries sporulantes aérobies (BSA) comme indicateur d'efficacité de procédés	16
2.3.1 Potentiel comme indicateur d'efficacité des traitements traditionnels	16
2.3.2 Les spores de BSA et les UV	18
2.4 Modèles cinétiques	20
2.4.1 Modèle Chick-Watson	20
2.4.2 Modèle d'évènements en série (<i>series-event</i>)	20
2.4.3 Modèle multi-cibles (<i>multi-target</i>).....	23
2.4.4 Modèles empiriques	24
2.4.5 Modèles permettant la description du plafonnement ou l'influence des particules	27
2.4.6 Modèle Scheible.....	30

CHAPITRE 3 : MODÉLISATION DE RÉSULTATS D'INACTIVATION UV DE SPORES DE BACTÉRIES SPORULANTES AÉROBIES (BSA) INDIGÈNES ET COMPARAISON DE TROIS MODÈLES (GEHR ET WRIGHT, SCHEIBLE, MAMANE-GRAVETZ ET LINDEN) 32

3.1 Introduction.....	32
3.2 Matériel et méthodes.....	33
3.2.1 Sources d'eau	33
3.2.2 Comptes de bactéries sporulantes aérobies (BSA) et caractérisation physico-chimique.....	34
3.2.3 Système à faisceaux collimatés basse pression et mesure du taux de fluence	34
3.2.4 Calcul de fluence UV	35
3.2.5 Obtention des données	35
3.2.6 Modélisation.....	36

CHAPITRE 4: BLENDING AND FILTRATION EFFECTS ON UV KINETICS OF INDIGENOUS SPORES.....56

4.1 Abstract.....	56
4.2 Introduction.....	56
4.3 Objective.....	59
4.4 Material and methods	59
4.4.1 Source waters	59
4.4.2 Spores of aerobic spore-forming bacteria (SASFB): enumeration, physico-chemical parameters and particle-counting.....	60
4.4.3 Low-pressure collimated beam apparatus and fluence rate measurement....	60
4.4.4 Fluence calculation	61

4.4.5 UV irradiation and dispersion protocol.....	61
4.4.6 Data analysis	62
4.5. Results and discussion	63
4.5.1 Overview of inactivation data: Impacts of blending and filtration	63
4.5.2 Influence of pretreatment on UV inactivation kinetics - Overview of inactivation kinetics parameters.....	64
4.5.3 Impacts of water quality characteristics on UV disinfection efficacy	68
4.6 Conclusions.....	69
4.7 Acknowledgments	70
4.8 References.....	71
4.9 Footnotes.....	76
4.10 Tables.....	76
4.11 Figures	78
CHAPITRE 5 : DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALE.....	83
5.1 Discussion générale	83
5.2 Conclusion générale.....	86
RÉFÉRENCES	88
ANNEXES	99

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 3.1: Paramètres du modèle de Gehr et Wright obtenus suite à la modélisation des résultats d'essais d'inactivation UV de spores indigènes de BSA dans différentes eaux et les coefficients de corrélation reliés	38
Tableau 3.2: Concentration de spores de BSA responsables du plafonnement d'inactivation, N_p , et proportion relative de cette concentration	40
Tableau 3.3: Paramètres du modèle de Scheible obtenus suite à la modélisation des résultats d'essais d'inactivation UV de spores indigènes de BSA dans différentes eaux et les coefficients de corrélation reliés	41
Tableau 3.4: Proportion de spores de BSA indigènes « protégées » dans trois sources d'eau en fonction de la date d'échantillonnage.	42
Tableau 3.5: Paramètres du modèle de Mamane-Gravetz et Linden obtenus suite à modélisation des résultats d'essais d'inactivation UV de spores indigènes de BSA dans différentes eaux et les coefficients de corrélation reliés	43
Tableau 3.6: Paramètres physico-chimiques et concentration de spores de BSA des échantillons d'eau utilisés pour les essais d'inactivation UV	46
Table 4.1: Fluence for 1- and 2-log inactivation of <i>Bacillus subtilis</i> strain ATCC 6633	76
Table 4.2: Summary of water quality parameters and SASFB spore concentrations for all samples	77
Table 4.3: Inactivation kinetics parameters using the parallel Chick-Watson equation model for SASFB spore inactivation using ultraviolet light	77

LISTE DES FIGURES

Figure 2.1: La lumière UV dans le spectre électromagnétique	6
Figure 2.2 : Spectre d'émission des lampes à basse et à moyenne pression.....	7
Figure 2.3: Spectre d'absorption des nucléotides et de l'ADN	10
Figure 2.4 : Dimère pyrimidine entre deux bases thymine.....	12
Figure 2.5: Déviations courantes à la loi de Chick-Watson	21
Figure 3.1: Résultats de l'essai d'inactivation UV de spores de BSA indigènes dans l'eau de la rivière des Mille-Îles le 24 janvier 2006 ainsi que la prédiction du modèle de Mamane-Gravetz et Linden avec la présentation schématique des paramètres du modèle.	44
Figure 3.2 : Résultats expérimentaux et courbe obtenue à partir du modèle Scheible pour les résultats d'essai d'inactivation avec l'échantillon d'eau du fleuve St-Laurent prélevé le 20 janvier 2006.....	50
Figure 4.1: Dispersion, filtration and UV irradiation protocol for three types of spores: filtered, dispersed and non-dispersed	78
Figure 4.2: Effect of pre-treatments on turbidity (top) and particle concentration ($>8 \mu\text{m}$) (bottom).	79
Figure 4.3: Examples of inactivation curves.	80
Figure 4.4: Inactivation data from sample collected from the Mille-Iles River on April 12, 2006	81
Figure 4.5: Inactivation of indigenous spores of spore-forming aerobic bacteria for a fluence of 40 mJ/cm^2	82
Figure 4.6 : Inactivation of spores and <i>Cryptosporidium</i>	82

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A : Exemple de calculs de fluence.....	99
ANNEXE B : Calcul du facteur de Petri.....	100
ANNEXE C : Photo descriptive du montage de lampes UV à faisceaux collimatés et résultats de sa validation selon les standards de la <i>National Water Research</i> <i>Institute</i>	101
ANNEXE D : Résultats bruts sous forme numérique et graphique.....	104
ANNEXE E: Article de synthèse bibliographique publié dans <i>IUVA News</i>	128
ANNEXE F : Article complémentaire de Caron et al. soumis à <i>Water Research</i> ...	137
ANNEXE G : Résumé pour la conférence JIE à Poitiers 2006.....	166

Chapitre 1 : INTRODUCTION

Bien que la première application d'un procédé de désinfection par lumière ultraviolette (UV) en eau potable ait été rapportée au début du 20^e siècle, l'utilisation de cette technologie ne s'est répandue de façon importante en Europe que dans les années 80 (Hijnen et al. 2006). Toutefois, les UV ont émergé comme procédé de désinfection primaire suite à la découverte de leur forte efficacité pour inactiver deux parasites d'importance en eau potable : *Giardia* et *Cryptosporidium* (Clancy et al. 1998). Ces deux protozoaires possèdent une très grande résistance au chlore et l'application de faibles valeurs de CT d'ozone, nécessaires pour limiter la formation de bromates, a peu d'effet sur les oocystes de *Cryptosporidium*. L'utilisation de procédés UV en eau potable était limitée par la perception que ceux-ci sont inefficaces pour inactiver les kystes de *Giardia* et les oocystes de *Cryptosporidium*. Une des premières études sur le sujet rapporte une inactivation de 0,6 log de *Giardia* après application d'une fluence de 63 mJ/cm² de lumière UV monochromatique utilisant une lampe à arc à basse pression (Rice et al. 1981), ce qui étaient au-delà des limites des installations typiques de l'époque. D'autres auteurs ont ensuite rapporté des résultats similaires avec différentes espèces de *Giardia* (Carlson et al. 1985; Karanis et al. 1992) et avec *Cryptosporidium parvum* (Ransome et al. 1993; Campbell et al. 1995). Après l'étude de Clancy et al. (1998), de nombreuses études ont confirmé les résultats de ces derniers et rapporté une susceptibilité de ces deux parasites aux UV de beaucoup supérieure à ce qui était accepté jusqu'alors (Clancy et al. 2000; Linden et al. 2001; Craik et al. 2001; Bukhari et al. 2004). On remet en question la méthode d'essai de viabilité *in vitro* qui pourrait avoir sous-estimé significativement l'inactivation des parasites, lorsque comparée avec des essais *in vivo*. Plusieurs études ont comparé les résultats d'essais *in vivo* et *in vitro* et ont obtenu des résultats confirmant cette hypothèse (Bukhari et al. 1999; Craik et al. 2000; Morita et al. 2002). Les rayons UV sont maintenant reconnus comme étant très

efficaces contre *Cryptosporidium*, *Giardia*, les bactéries et, dans une moindre mesure, les virus.

L'épidémie de cryptosporidiose de Milwaukee (1993) a montré la difficulté d'abattre *C. parvum* de façon robuste et fiable par voie de filtration assistée chimiquement et d'inactivation chimique. De plus, l'augmentation des doses de désinfectant mène à l'augmentation de la production de sous-produits de désinfection, dont les trihalométhanes (THM) et les acides haloacétiques (AHA) qui sont réglementés. Ces facteurs, combinés avec les très faibles fluences UV nécessaires pour atteindre de hauts niveaux d'inactivation de *Cryptosporidium*, ont contribué à l'intérêt actuel envers cette technologie.

Bien que les UV suscitent un intérêt grandissant pour la désinfection d'eau potable, encore bien peu de recherche a été réalisée pour étudier et modéliser les cinétiques de désinfection UV en eaux naturelles. Ainsi, de nombreux modèles existent pour décrire l'inactivation de bactéries coliformes en eaux usées, mais peu de modèles ont été développés pour décrire l'inactivation UV de microorganismes en eau potable.

De plus, l'impact de la matière particulaire sur l'efficacité de la désinfection UV en eau potable, phénomène abondamment étudié en eaux usées, n'a jusqu'à date été approché qu'en reconstituant des eaux brutes au laboratoire et en y dopant des microorganismes issus de souches cultivées en laboratoire. Ceci est vraisemblablement dû à l'absence, en concentration suffisante, de microorganismes indicateurs ou pathogènes, donc d'intérêt en eau potable, pour réaliser des essais de désinfection. Cette approche ne permet toutefois pas de prendre en compte l'effet d'occlusion de microorganismes au sein de particules puisque les organismes dopés seront, au mieux, agrégés à la surface de particules (United States Environmental Protection Agency (USEPA) 2003). Ainsi, l'utilisation d'endospores de bactéries

sporulantes aérobies (BSA) indigènes comme indicateur de performance d'un procédé de désinfection UV offre des avantages :

- Une grande résistance aux UV;
- Une détection simple et rapide;
- La présence en grande concentration naturellement dans les eaux de surface.

Le présent projet de recherche prend comme base les hypothèses suivantes :

- La présence d'agrégation bactérienne et d'association spore-particules confèrent aux spores de BSA indigènes un niveau significatif de protection pouvant nuire à la désinfection par lumière UV.
- Les particules et agrégats pouvant protéger les spores de BSA sont de taille supérieure à 8 μm .

Deux principaux objectifs ont été définis. En premier lieu, déterminer si les modèles mathématiques préalablement élaborés en eaux usées sont adéquats pour la description de l'inactivation d'organismes indigènes dans des eaux non-filtrées. Ainsi, trois modèles, tirés de la littérature, ont été utilisés pour modéliser l'inactivation de spores de BSA indigènes à deux eaux de surface et une eau usée. En deuxième lieu, élaborer un protocole de filtration et de dispersion pour étudier l'effet de l'agrégation bactérienne et spores-particules sur l'efficacité et la cinétique de désinfection UV.

Une revue de la littérature existante relative aux mécanismes d'inactivation UV, à l'utilisation des spores de BSA comme indicateur de désinfection et à la modélisation de la désinfection UV est fournie au chapitre 2. Elle est complétée par un article de synthèse publié dans la revue *IUVA News* en 2006 qui est présenté à l'annexe E qui rapporte les conditions et résultats d'inactivation lors d'essais avec des faisceaux collimatés pour différents types de microorganismes. L'application de trois modèles pour la description de résultats d'inactivation UV de spores de BSA indigènes est

présentée au troisième chapitre. Finalement, les impacts de deux prétraitements (la dispersion et de la filtration) sur la cinétique de désinfection UV en eau naturelle ont été investigués et les résultats sont l'objet d'un article rédigé en anglais, qui est présenté au chapitre 4. Le protocole de validation du montage UV utilisé, les résultats de la validation ainsi qu'une illustration du montage sont présentés à l'annexe C. De plus, il faut noter la contribution aux travaux qui ont mené à l'article intitulé « Impact of Microparticles on UV Disinfection of Indigenous Aerobic Spores » soumis à la revue *Water Research* le 16 août 2006 qui est présenté à l'annexe F. Aussi, les résultats ont été envoyés sous forme de résumé pour diffusion à la conférence JIE à Poitiers. Celui-ci est présenté à l'annexe G. Une courte conclusion clôt le mémoire au chapitre 5. Notons que tous les résultats sont présentés sous forme brute et sous forme graphique à l'annexe D.

Chapitre 2 : REVUE DE LITTÉRATURE

La revue de littérature réalisée pour ce projet de recherche se divise en quatre sections. La section 2.1 présente une description de la lumière UV, des techniques pour la produire et des ses effets sur le matériel génétique des microorganismes. Les concepts relatifs aux essais avec montage à faisceaux collimatés et au calcul de la fluence (dose) UV y sont aussi présentés. La section 2.2 est constituée d'une revue de la littérature ayant trait à l'impact de la matière particulaire sur la désinfection UV. Ensuite, la section 2.3 relate du potentiel des spores de BSA comme indicateur de désinfection et finalement, la section 2.4 présente les différents modèles mathématiques existants, permettant la description de la cinétique d'inactivation UV.

2.1 La lumière UV

2.1.1 Description

La lumière ultraviolette (UV) fut découverte comme faisant partie du spectre électromagnétique par le physicien allemand Johann Ritter en 1801. La lumière UV réfère à la radiation ayant une longueur d'onde comprise dans le spectre de 100 à 400 nm. Ce spectre fait partie des longueurs d'onde plus petites que la lumière visible et plus grande que les rayons X. Le spectre UV est divisé en trois parties : les UV-A (315-400 nm), les UV-B (280-315 nm) et les UV-C (100-280 nm). Les anglophones appellent parfois la section du spectre située entre 100 et 200 nm « Vacuum UV » (vacuum signifiant « vide ») en référence au fait que les expériences réalisées à ces longueurs d'onde doivent être réalisées sous vide car l'absorbance de l'air et de l'eau à ces longueurs d'onde est très élevée. Le spectre UV est présenté à la figure 1.

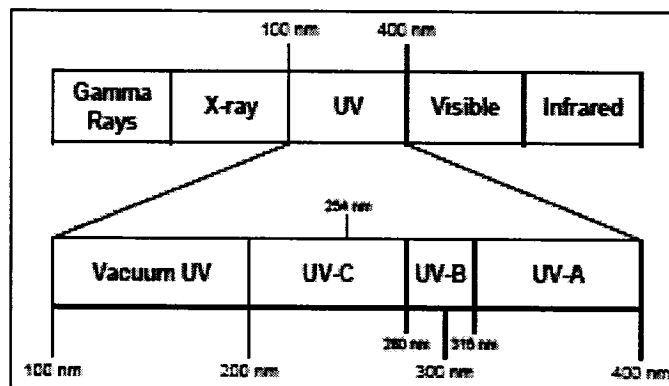


Figure 2.1: La lumière UV dans le spectre électromagnétique
(tiré de USEPA, 2003)

2.1.2 Lampes UV

Il existe une variété de lampes, fondées sur des technologies différentes, qui émettent de la lumière UV. Toutefois, dans le domaine de l'eau potable, deux types de lampes sont utilisés et elles fonctionnent grâce à la mise sous pression de vapeur de mercure. Lorsque la pression de vapeur est dite basse, soit de 0,001 à 0,01 torr (2×10^{-5} à 2×10^{-4} psi) et à la température de la pièce, la lumière est alors émise à des longueurs d'onde de 253,7 nm (à 70%) et 185 nm (à 30%) (USEPA, 2003). Lorsque la pression est plus élevée (100 à 10000 torr), la température de la vapeur augmente jusqu'à 6000 degrés Celsius et la lampe émet plus ou moins intensément dans le spectre de longueurs d'onde de 185 à 1000 nm avec une composante dans la zone biocide de 200 à 300 nm (Fahey et al. 2004). Ces types de lampes UV sont appelés lampe à basse et à moyenne pression, respectivement, et leurs spectres d'émission sont présentés à la figure 2.2. Notons que les lampes à moyenne pression émettent une lumière de 10 à 100 fois plus intense, que les lampes à basse pression conventionnelles. Elles sont donc beaucoup plus coûteuses énergétiquement. Cependant, puisqu'une lampe à moyenne pression émet plus d'énergie, il est possible de concevoir un procédé délivrant autant d'énergie avec moins de lampes. La

désinfection grâce à des lampes à basse pression étant réalisée depuis un certain temps dans le domaine des eaux usées, l'utilisation de ces lampes est relativement bien documentée. Les lampes à pression moyenne sont plus récentes mais certains chercheurs ont obtenu des résultats démontrant une meilleure efficacité d'abattement de virus coliphages avec ces lampes qu'avec celles à basse pression (Batch et al. 2004).

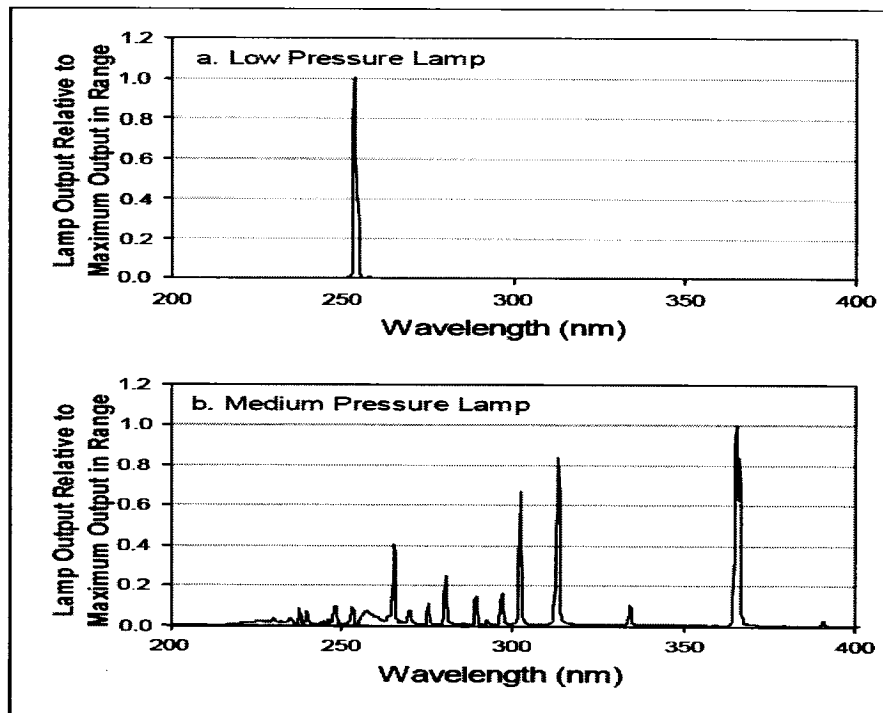


Figure 2.2 : Spectre d'émission des lampes à basse et à moyenne pression
(tiré de USEPA, 2003)

Toutefois, plusieurs études ont obtenu des résultats semblables avec les deux types de lampes lors d'essais avec faisceaux collimatés d'inactivation de *Cryptosporidium parvum* (Craig et al. 2001) et d'*Escherichia coli* (Oguma et al. 2002) et lors d'essais pilotes pour l'inactivation de bactéries hétérotrophes (Mofidi et al. 2004).

2.1.3 Mesure de la fluence UV

Lors d'essais d'inactivation à l'aide de lumière UV, il est primordial de pouvoir mesurer précisément la fluence UV, ou dose UV. La fluence est le total de l'énergie traversant un liquide par unité de surface irradiée. Une source de lumière UV envoie une certaine puissance par unité de surface, appelée taux de fluence. Ainsi, en multipliant le taux de fluence par le temps d'exposition, on obtient l'énergie émise :

$$\begin{aligned} \text{Taux de fluence} \times \text{Temps} &= \text{Énergie/surface} = \text{fluence UV} \\ \text{mW/cm}^2 \times \text{s.} &= (\text{mW.s})/\text{cm}^2 = \text{mJ/cm}^2 \end{aligned}$$

En Amérique, la fluence est exprimée en mJ/cm^2 et en Europe, elle est exprimée en J/m^2 . Notons que $10 \text{ J/m}^2 = 1 \text{ mJ/cm}^2$.

Pour que la fluence appliquée soit mesurée précisément, il faut que le taux de fluence soit corrigé pour les différentes pertes. Ainsi, il devient important d'utiliser un montage standard permettant de minimiser et de mesurer précisément celles-ci. Un premier montage à faisceaux collimatés a été utilisé par Qualls et al. (1983b). Ce type de montage est constitué principalement d'une lampe UV cachée derrière un clapet dont le mécanisme d'ouverture et de fermeture est régi par une minuterie permettant de contrôler le temps d'exposition. Les faisceaux de lumière sont collimatés par un tube ou autre cylindre, permettant de maintenir le quasi-parallélisme des faisceaux de lumière atteignant la surface irradiée. Une première méthode standardisée d'essai d'inactivation à l'aide d'un montage à faisceaux collimatés a été proposée par Bolton et Linden (2003). Ceux-ci fixent quatre paramètres de correction du taux de fluence : l'absorbance du liquide, l'uniformité énergétique du faisceau, la réflexion de la lumière à l'interface air-eau et la divergence du faisceau. Chaque paramètre doit être préalablement calculé pour ensuite corriger le taux de fluence qui sera utilisée dans le calcul de la fluence. Lors d'essais avec une source de lumière polychromatique (moyenne pression), un

cinquième facteur de correction entre en jeu pour tenir compte de la sensibilité des microorganismes aux différentes longueurs d'onde. D'autres paramètres plus techniques sont aussi précisés. Kuo et al. (2003) ont aussi analysé les points sensibles lors de la mise en place d'un essai avec faisceaux collimatés. Toutefois, ils ne considèrent pas l'absorbance du liquide dans le calcul de la fluence. Plus récemment, Gehr (2005) a proposé d'ajouter un paramètre appelé le « ratio énergétique » qui prend en compte l'énergie absorbée par l'eau pour donner un indice de l'aptitude d'une eau à être désinfectée par les UV.

2.1.4 Inconvénients de la désinfection UV

Malgré plusieurs avantages sur la désinfection chimique, comme la production pratiquement nulle de sous-produits de désinfection, l'utilisation des UV comme procédé de désinfection comporte certains inconvénients. Le principal désavantage est celui de n'offrir aucun effet rémanent dans l'eau distribuée, ce qui implique l'utilisation d'un désinfectant secondaire chimique. Aussi, l'efficacité d'un procédé de désinfection UV est directement liée à la qualité de l'eau et la présence de particules peut nuire au procédé, en plus d'augmenter la fréquence des opérations de maintenance. D'ailleurs, l'encrassement des lampes nécessite un lavage régulier, particulièrement lors de l'utilisation de lampes polychromatiques, dont l'encrassement est plus rapide. L'efficacité du procédé est relativement difficile à vérifier *in situ* car la vérification se fait par des capteurs mesurant le taux de fluence en continu mais dont la lecture dépend fortement de leur position dans le réacteur. En terminant, un inconvénient majeur de la désinfection UV est le fait que certains organismes, ont la capacité de réparer les dommages causés par la lumière UV. Cette problématique est abordée dans la section suivante.

Il faut aussi mentionner les droits présentement demandés par la compagnie *Calgon*, pour l'utilisation de lampes UV pour inactiver les oocystes de *Cryptosporidium*. Celle-ci prétend détenir le brevet sur l'utilisation des lampes UV à cette fin et exige

le paiement de droits proportionnels au volume d'eau traité. L'affaire est présentement devant les tribunaux mais pourrait éventuellement nuire à cette technologie, dont les coûts pourraient devenir beaucoup plus importants.

2.1.5 Mécanismes d'inactivation et mécanismes de réparation microbiens

L'efficacité biocide de la lumière UV est principalement due à son absorption par les acides nucléiques composant le matériel génétique des cellules. Dans les acides nucléiques, les nucléotides sont responsables de l'absorbance de la lumière UV. Dans l'ADN on retrouve les bases purines : adénine (A) et guanine (G), et les bases pyrimidines : la thymine (T) et la cytosine (C). Dans l'ARN, la thymine est remplacée par l'uracile (U). Ces nucléotides ont chacun leur propre spectre d'absorption.

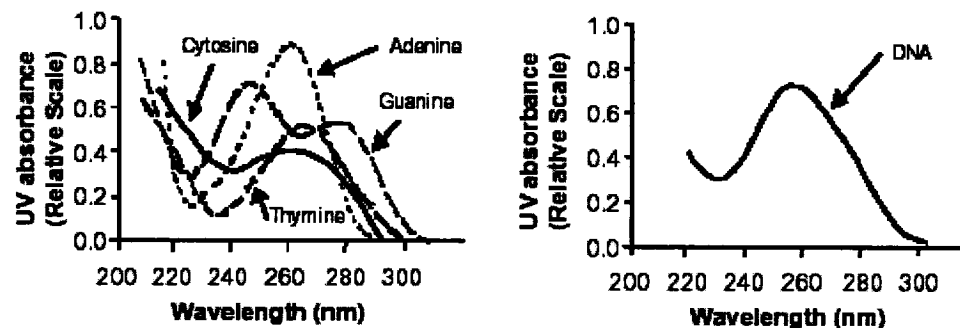


Figure 2.3: Spectre d'absorption des nucléotides et de l'ADN

(tiré de USEPA, 2003)

Comme le matériel génétique de chaque microorganisme est composé d'un agencement particulier de nucléotides, le spectre d'absorption de ceux-ci est variable. Toutefois, on retrouve invariablement un maximum d'absorption de l'ADN dans la région entre 260 nm et 265 nm de longueur d'onde (Harm, 1980). L'ARN absorbe de façon similaire. Comme on la voit à la figure 2.3, l'absorption diminue lorsque l'on s'éloigne du maximum d'un côté ou de l'autre de la longueur d'onde d'absorption maximale.

L'absorbance UV des protéines dans le spectre de 240 nm à 300 nm est de beaucoup inférieure à celle des nucléotides. La raison de cette faible absorbance est que seulement quelques acides aminés absorbent de manière significative dans ce spectre. On mesure un maximum d'absorbance pour les protéines autour de 280 nm avec une diminution de part et d'autre de ce maximum. L'effet biocide dû à l'absorbance des protéines est beaucoup moins important que pour les nucléotides puisqu'en plus d'absorber moins d'énergie UV, les protéines sont souvent présentes en plusieurs copies identiques dans la cellule (Harm, 1980).

D'autres substances biologiques possédant des liens insaturés, autres que les nucléotides et les protéines, peuvent être impliquées dans les effets de la lumière UV. Entre autres, les enzymes possédant des liens insaturés peuvent aussi absorber les UV-B et les UV-C, produisant aussi des dégâts significatifs chez la cellule (Kalisvaart, 2001). Aussi, les UV-A, situés dans la plage de 315 à 400 nm, peuvent endommager la cellule en excitant les molécules photosensibles à l'intérieur de celle-ci produisant des agents réactifs comme le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) ou des ions hydroxydes ($OH^\cdot$) (Oguma et al. 2002).

Toutefois, le principal mécanisme permettant l'inactivation de microorganismes est la formation de dimères entre les pyrimidines comme celui présenté à la figure 2.4. Les bases pyrimidines sont environ dix fois plus absorbantes que les bases purines (Smith, 1969).

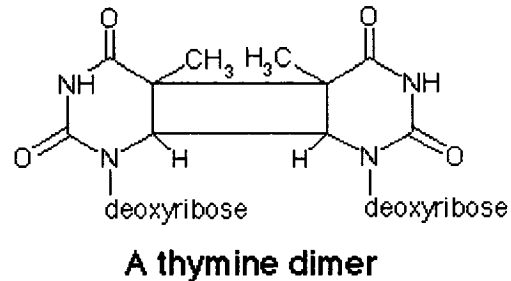


Figure 2.4 : Dimère pyrimidine entre deux bases thymine

La présence de dimères rend la réplication de l'ADN ou de l'ARN impossible et empêche donc la multiplication de la cellule, lui enlevant par le fait même la capacité d'infecter. Toutefois, plusieurs microorganismes ont la capacité de réparer leur matériel génétique lorsque celui-ci est endommagé.

La réparation du matériel génétique passe par un processus enzymatique accompli en présence de lumière ou non, bien que le processus en présence de lumière soit plus rapide. Celui-ci, appelé photoréparation, se produit lorsqu'une enzyme, la photolyase, est énergisée par la lumière dans la plage de 310 à 490 nm (Knudson, 1985). La première étape dans le processus de photoréparation est l'attachement de l'enzyme au matériel génétique endommagé. Cette étape ne requiert pas de lumière. La deuxième étape est l'activation de l'enzyme par la lumière, initiant la réaction de réparation (Harm, 1980). Toutes les cellules ayant l'ADN comme matériel génétique ont la capacité de se photoréparer, sauf quelques exceptions (Larson et al. 1988). Les virus à ADN peuvent aussi se photoréparer en utilisant la photolyase de la cellule hôte. Toutefois, l'enzyme ne peut réparer que l'ADN et non l'ARN (Harm, 1980; USEPA, 2003).

Le même taux d'abattement de la bactérie *Escherichia coli* avec une même fluence administrée à l'aide d'une lampe monochromatique (254 nm), une lampe

polychromatique (220 à 580 nm) et une lampe polychromatique filtrée (300 à 580 nm) a été obtenu par Oguma et al. (2002). Toutefois, les bactéries irradiées par la lampe monochromatique et la polychromatique filtrée ont pu réparer plus de 80% des dégâts causés à leur ADN en trois heures d'exposition à une lampe fluorescente. Ces résultats sont très importants puisqu'ils mettent en évidence l'importance de la lumière de 220 à 300 nm de longueur d'onde dans l'inactivation permanente d'*E. coli*. Des résultats similaires, montrant une absence de photoréparation chez *E. coli* lors d'essais réalisés avec une lampe à moyenne pression polychromatique ont été obtenus par Zimmer et al. (2002). Hoyer (1998) a obtenu des résultats montrant que la fluence UV nécessaire pour obtenir 4 log d'inactivation de *E. coli* devait être augmentée de 3,5 fois en prenant en compte la photoréparation. Morita et al. (2002) ont fait la démonstration que *Cryptosporidium parvum* avait la capacité de réparer les dimères pyrimidines en présence de lumière ou non mais que, malgré cela, les oocystes ne redeviennent pas infectieux. Ainsi, ceux-ci sont capables de désenkyster mais pas d'infecter. Des résultats similaires ont été obtenus par Shin et al. (2001) lors d'essais avec faisceaux collimatés monochromatiques et par Zimmer et al. (2003) lors d'essais avec faisceaux collimatés mono- et polychromatiques, les chercheurs ne constatant aucune réparation en présence ou non de lumière. Craik et al. (2000) et Linden et al. (2002) présentent les mêmes conclusions avec *Giardia muris* lors d'essais à faisceaux collimatés polychromatiques et *Giardia lamblia* lors d'essais avec faisceaux collimatés monochromatiques, respectivement. Toutefois, Belosevic et al. (2001) ont constaté un regain d'infectivité *in vivo* après irradiation de faibles fluences ($<25 \text{ mJ/cm}^2$) de lumière UV polychromatique. Mofidi et al. (2004) ont observé que des bactéries hétérotrophes présentes dans l'effluent d'un biofiltre ont pu se réactiver complètement après 3 et 7 jours en condition sombre après avoir été exposées à 60 et 140 mJ/cm^2 de lumière UV monochromatique. Ainsi, en l'absence de concentration résiduelle de désinfectant, les bactéries hétérotrophes, présentes durant une période de temps relativement longue dans les réseaux de distribution, pourraient se réactiver complètement. Ces résultats démontrent bien l'importance

d'une post-désinfection lors de l'utilisation de lumière UV monochromatique comme principal procédé de désinfection.

2.2 L'impact des particules sur l'efficacité de procédés de désinfection UV

2.2.1 L'impact de la matière en suspension présente en eaux usées sur l'inactivation de bactéries coliformes

Les études sur l'impact de la matière particulaire sur la désinfection de bactéries coliformes dans les eaux usées abondent. La présence d'un plafonnement d'inactivation (*tailing*) empêche parfois l'atteinte des objectifs d'inactivation de bactéries coliformes présentes dans l'effluent de la station avant le rejet dans le milieu naturel. Une des premières études sur le sujet (Qualls et al. 1983a) rapporte la disparition du plafonnement d'inactivation à 3 log, lorsque l'effluent était préalablement filtré pour enlever les particules de taille supérieure à 8 µm. Ces résultats concordent avec celles de Jolis et al. (2001) qui constatent une efficacité accrue (0,5 à 1 log) des UV pour inactiver des bactéries coliformes dans des eaux usées préalablement filtrées sur 7 µm. Qualls et al. (1985) observent une augmentation importante de l'inactivation maximale (avant plafonnement) dans six différentes eaux usées préalablement filtrées sur 10 µm. Les auteurs en viennent à la conclusion que la plupart des bactéries agrégées le sont à des particules de taille supérieure à 10 µm. Toutefois, ils n'obtiennent qu'une faible corrélation ($R^2 = 0,4$) entre les nombres de survivants à une fluence de 26 mJ/cm² et le nombre de particules de taille supérieure à 10 µm. Pour quantifier le degré d'association particulaire, Parker et al. (1995) ont utilisé une approche différente, consistant à disperser les bactéries coliformes. Ceux-ci ont obtenu des comptes de bactéries jusqu'à quatre fois supérieurs et une inactivation UV augmentée après dispersion par malaxage, démontrant ainsi qu'un nombre important de bactéries coliformes sont agrégées et protégées au sein de particules. Toutefois, les auteurs n'ont pu faire aucune corrélation entre le degré de protection des bactéries et les paramètres de qualité de l'eau. Similairement, Örmeci et Linden (2005) ont observé des comptes de

bactéries coliformes de 2 à 3 fois plus élevés suite au malaxage ou à l'extraction à l'aide de produits chimiques dans des eaux usées. Loge et al. (1996b) ont obtenu une bonne corrélation ($R^2 = 0,79$) entre le nombre de survivants d'une irradiation UV et la concentration de matière en suspension (MES). Dans une étude subséquente, Emerick et al. (1999) obtiennent une excellente corrélation ($R^2 = 0,9$) entre le nombre de bactéries coliformes survivantes suite à une irradiation UV et la concentration de particules agrégées à des bactéries. Ainsi, le fait que les particules offrent une certaine protection aux bactéries coliformes présentes dans les eaux usées est accepté. D'ailleurs un modèle a été développé par Emerick et al. (2000) qui retiennent comme paramètre la concentration de particules contenant des bactéries coliformes pour prédire l'inactivation obtenue en fonction de la fluence UV.

2.2.2 Particules et désinfection UV de l'eau potable

Jusqu'en 2003, toutes les études en eau potable sur l'impact des particules sur la désinfection UV avaient été réalisées avec des organismes dopés (USEPA, 2003). Ainsi, les observations faites dans le cadre de celles-ci ne sont applicables que pour l'effet de la dispersion de la lumière UV due aux particules et ne nous renseignent pas sur l'impact de la protection de microorganismes intégrés dans des particules, ou agrégés en floc. Depuis, d'autres études ont continué en ce sens. Batch et al. (2004) ont observé le même degré d'inactivation de coliphages MS2 dopés dans des eaux traitées de différentes turbidités. Notons cependant que les valeurs de turbidité des différents échantillons étaient très faibles ($< 0,4$ UTN). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Oppenheimer et al. (2002) qui ont réalisé des essais pilotes avec de l'eau de surface dans laquelle des MS2 avaient été ajoutés. La turbidité jusqu'à 7 UTN n'a pas eu d'effets notables. Dans une étude subséquente, Passantino et al. (2004) n'ont observé aucune protection des MS2 dopés dans de l'eau de surface non-filtrées, même lorsque la turbidité était augmentée jusqu'à 12 UTN à l'aide de particules d'argile. Craik et al. (2003) ont observé une diminution marquée de l'inactivation en réacteur pilote de MS2 dopés dans une eau de surface non-filtrée

dans laquelle des sédiments avaient été ajoutés, faisant ainsi passer la turbidité de 0,45 à 17 UTN. Mamane-Gravetz et al. (2004a) n'ont pas observé de différences significatives d'inactivation de spores de *Bacillus subtilis* en présence d'argile causant une turbidité de 5 UTN. Toutefois, une modeste diminution ($\sim 0,2$ log) est rapportée lors de l'ajout d'un flocculant. D'autres auteurs n'ont observé aucune différence d'inactivation lors d'essais avec des eaux de turbidités différentes dans lesquelles des oocystes de *Cryptosporidium parvum* et de *Giardia muris* avaient été ajoutés (Oppenheimer et al. 2002; Craik et al. 2002). Mamane-Gravetz et al. (2004b) ont observé une cinétique entièrement log-linéaire lors d'essais d'inactivation de spores de BSA indigènes à des eaux de surface réalisés en montage à faisceaux collimatés monochromatique. La linéarité de la cinétique d'inactivation laisse supposer qu'aucune interférence particulière n'est présente dans des eaux de surface utilisées de turbidité relativement faible (< 5 UTN). Similairement, Cantwell et al. (2005a) ont observé une cinétique log-linéaire lors d'essais d'inactivation de spores de BSA indigènes à une eau de lac avec un réacteur pilote, malgré la présence de plus de 8 000 particules de taille entre 10 et 50 μm par 100 mL d'eau.

Ainsi, peu d'études à date ont été réalisées à l'aide d'organismes indigènes, ce qui permettrait de mieux comprendre l'interaction naturelle entre les particules présentes dans les eaux de surface et les microorganismes. C'est dans cette perspective que l'utilisation des spores de bactéries sporulantes aérobies (SBSA) indigènes est intéressante.

2.3 Les spores de bactéries sporulantes aérobies (BSA) comme indicateur d'efficacité de procédés

2.3.1 Potentiel comme indicateur d'efficacité des traitements traditionnels

Un certain nombre de bactéries Gram-positives ont la capacité d'acquérir une structure physique particulièrement résistante appelée endospores (Prescott et al. 2003) que nous appelons simplement « spores » dans ce document. Seulement un

certain nombre de genres bactériens peuvent former des spores dont les plus étudiés sont les bâtonnets de genre *Bacillus* et *Clostridium*. La structure dormante de la spore permet à la bactérie de survivre dans des conditions environnementales extrêmes et lui confère une résistance accrue aux rayons UV, à la chaleur, aux désinfectants chimiques et à des conditions de manque d'eau ou de nutriments (Prescott et al. 2003). Les bactéries du genre *Clostridium* sont anaérobies, et ne sont donc pas traitées dans cette section.

Les bactéries sporulantes aérobies présentes dans les eaux naturelles sont principalement du genre *Bacillus* et ne posent aucun danger pour la santé humaine (Rice et al. 1996). Elles sont de forme sphérique ou ellipsoïdale et mesurent approximativement $0,5 \times 1,0 \times 2,0 \mu\text{m}$. L'augmentation de leur nombre dans les eaux de surface est généralement corrélée à une augmentation de la turbidité (Nieminski et al. 2000) et est souvent observée suite à des précipitation importantes, résultant du lessivage des sols (Rice et al. 1996). On trouve généralement des spores de BSA en nombre suffisamment élevé dans les eaux naturelles pour en retrouver tout au long des filières de traitement de potabilisation de l'eau (Nieminski et al. 2000). De plus, leur dénombrement est relativement facile, rapide, peu coûteux et fiable (Barbeau et al. 1997), ce qui en fait un indicateur de choix de l'efficacité des procédés de traitement (Kawamura et al. 1986). La diminution du nombre des spores de BSA lors d'une filière de traitement est principalement due à l'enlèvement par filtration assistée chimiquement (Nieminski et al. 2000). Les spores de BSA peuvent donc être utilisées comme indicateur de la performance de ce type de traitement. Celles-ci sont très résistantes aux oxydants couramment utilisés comme désinfectant pour l'eau (Kawamura et al. 1986). Barbeau et al. (1999) ont fait des essais d'inactivation au chlore avec différentes souches de *B. subtilis* provenant de deux rivières et une souche pure de laboratoire. Ils ont observé qu'une des souches présentaient une résistance au chlore très semblable à celle du parasite *Giardia* et les autres souches présentaient une résistance encore supérieure. Les auteurs concluent

que les spores de BSA sont un indicateur conservateur de l'inactivation de *Giardia* par le chlore. Facile et al. (2000) présentent la même conclusion concernant l'inactivation à l'ozone. Ces derniers notent que l'inactivation des spores de BSA par l'ozone pourrait également être un indicateur de l'inactivation du parasite *Cryptosporidium* par cet oxydant. Toutefois, plusieurs auteurs (Facile et al. 2000; Barbeau et al. 1999) ont observé des variations importantes de la résistivité des spores de BSA face au chlore et à l'ozone qui sont vraisemblablement dues à différentes compositions de la flore composant les BSA.

2.3.2 Les spores de BSA et les UV

Comme il a été mentionné précédemment, les spores de BSA sont très résistantes aux UV. Une étude récente recense tous les résultats publiés de fluences UV et d'inactivations résultantes suite à des essais réalisés avec des montages à faisceaux collimatés (Chevrefils et al. 2006). Cette étude met en évidence que les spores de *B. subtilis* ont une résistivité aux UV légèrement supérieure à celle des coliphages MS2. Ceux-ci ne sont dépassés, au niveau de la résistivité, que par les adénovirus. À noter que l'étude n'a recensé que les essais réalisés avec des souches pures de *B. subtilis*. Des essais réalisés avec des populations de BSA indigènes ont démontré une résistance supérieure à celle des bactéries issues de souches pures cultivées en laboratoire. Mamane-Gravetz et al. (2004b) ont comparé l'inactivation de la souche ATCC6633 de *B. subtilis* à celle de différentes populations indigènes issues d'eaux de surface non filtrées. Alors, que la courbe d'inactivation de la souche ATCC6633 démontrait une latence pour les fluences inférieures à 10 mJ/cm^2 et un plafonnement à $4,5 \log$ au-dessus de 60 mJ/cm^2 , les courbes des populations indigènes étaient entièrement linéaires et près de 80 mJ/cm^2 était nécessaire pour obtenir $1 \log$ d'inactivation. Les résultats obtenus par Mamane-Gravetz et al. (2004b) avec la souche ATCC6633 corrélaient bien avec ceux de Sommer et al. (1999) lors d'essais en eau pure avec un montage à faisceaux collimatés. Toutefois, d'autres auteurs (Chang

et al. 1985; Sommer et al. 1998) ont obtenu des résultats montrant une plus forte résistivité aux UV de la souche ATCC6633 lors d'essais réalisés dans des conditions semblables.

Les différences de résistance aux UV de souches indigènes et de souches pures pourraient être dues à la méthode de culture. Nicholson et al. (1999) ont comparé la résistance de la souche 168 de *B. subtilis* à celle de souches indigènes extraites du sol du désert de Sonora, Arizona. Ils ont remarqué qu'initialement, les souches indigènes démontraient une résistance plus de deux fois supérieure à celle de la souche 168. Toutefois, après avoir cultivé ces souches en laboratoire, celles-ci montraient une résistance égale à la souche 168, laissant entrevoir que l'environnement où la spore est produite a un effet sur sa résistance aux UV. Mamane-Gravetz et al. (2005) ont observé une résistance très faible aux UV (près de 15 mJ/cm^2 pour 1 log d'inactivation) ainsi que la présence d'un plafonnement d'inactivation pour des spores indigènes après qu'elles aient été cultivées, purifiées et resporulées avant l'inactivation aux UV.

Les mécanismes de résistance de *B. subtilis* aux UV sont bien connus et un modèle expliquant la résistance aux UV-C a été élaboré. Selon ce modèle, certaines protéines spécifiques aux spores se lient à l'ADN transformant la configuration de l'ADN de la forme B à une forme de A durant la germination. Ainsi, la 5-thyminyl-5,6-dihydrothymine, un des principaux produits de l'irradiation de spores par des UV-C (Harm, 1980), est corrigée durant la germination par un mécanisme de réparation en absence de lumière.

Une méthode de validation de réacteur UV en continu a été développée par Qualls et al. (1983b). La méthode consiste principalement à faire tracer une courbe d'inactivation d'une souche pure, comme la souche ATCC6633, à l'aide d'une lampe à faisceaux collimatés. On introduit ensuite des spores en concentrations suffisantes à

l'entrée du réacteur et on vérifie l'inactivation obtenue. On peut ainsi confirmer la fluence envoyée par le réacteur en comparant l'inactivation obtenue avec la courbe d'inactivation préalablement tracée. Cette méthode est très utilisée en Europe alors qu'en Amérique, la même méthodologie est appliquée en utilisant des coliphages MS2.

2.4 Modèles cinétiques

2.4.1 Modèle Chick-Watson

Le modèle de Chick-Watson est considéré comme le modèle de référence pour décrire la partie linéaire de courbes d'inactivation. Historiquement, l'inactivation de microorganismes par la lumière UV a été approximée par l'expression de cinétique d'ordre un suivante (Loge et al. 1996b) :

$$N = N_0 e^{-kH}$$

où N = la concentration de microorganismes après exposition aux UV, N_0 = la concentration initiale de microorganismes, k = le taux d'inactivation (cm^2/mJ) et H = la fluence UV (mJ/cm^2). En pratique, l'inactivation de microorganismes par la lumière UV tend majoritairement à dévier d'une cinétique d'inactivation d'ordre un (Loge et al. 1996b). Plusieurs organismes présentent une courbe d'inactivation caractérisée par une latence d'inactivation à faibles fluences, une cinétique linéaire à fluences moyennes et un plafonnement d'inactivation à hautes fluences (*tailing*), tel que présenté à la figure 2.5. Ainsi, l'utilisation de ce modèle est restreinte mais sert à modéliser des sections de courbes qui réagissent de façon linéaire.

2.4.2 Modèle d'évènements en série (*series-event*)

Un des premiers modèles cinétiques proposés pour la modélisation de la désinfection UV est le modèle dit d'évènements en série, proposé par Severin et al. (1983). Les évènements se produisent par étapes successives et chaque étape est représentée par un nombre entier.

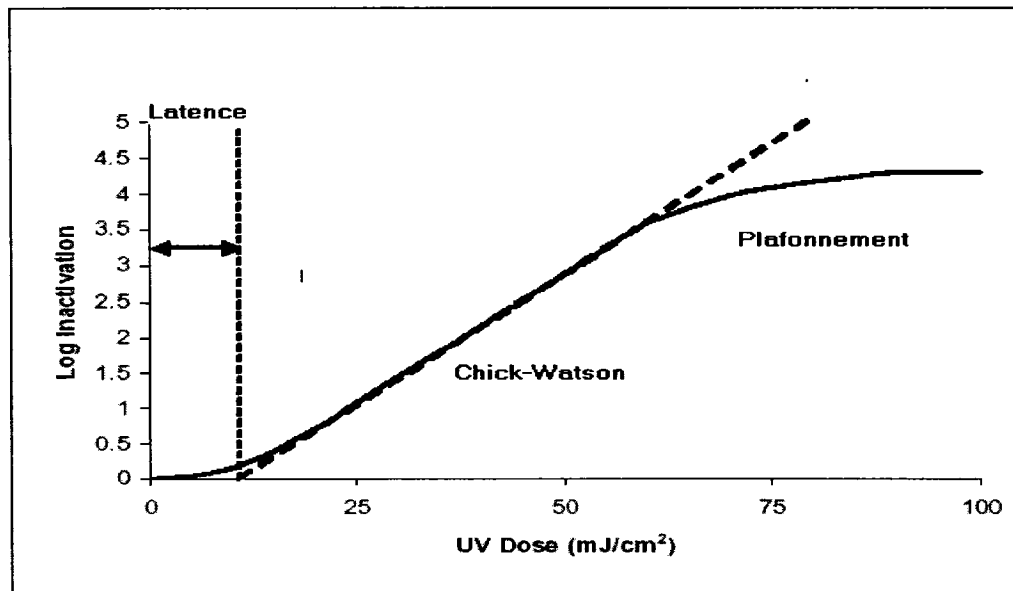


Figure 2.5: Déviations courantes à la loi de Chick-Watson

On définit un évènement comme étant une unité de dommage infligée à un microorganisme. Le taux de passage d'une étape à la suivante est indépendant du niveau où le microorganisme se trouve et suit une cinétique de premier ordre par rapport à l'intensité de la lumière UV à laquelle il est exposé. Un microorganisme passe une étape après l'autre tant qu'il reste en présence de lumière UV. Il existe un certain niveau de dommage n à partir duquel les microorganismes atteignant ce niveau sont inactivés et ceux se situant à un niveau inférieur survivent. Ainsi, le niveau où un microorganisme se situe représente le niveau cumulatif de dommages physiques que celui-ci a reçu et il peut se situer entre 0 (aucun dommage) et n (le dommage nécessaire pour l'inactivation). Ce niveau n varie selon différents facteurs, dont le type de microorganisme et les conditions de culture, mais il reste stable pour une série de conditions fixes.

On peut exprimer le modèle mathématiquement par l'équation suivante :

$$N = \sum_{i=0}^{n-1} N_i = N_0 e^{-kH} \sum_{i=0}^{n-1} \frac{(kH)^i}{i!}$$

où N_i = concentration de microorganismes au niveau i et k = le taux de passage d'un niveau à un autre. L'avantage principal de ce modèle est qu'il permet de modéliser la latence (*shouldering*) présente dans plusieurs courbes d'inactivation. On peut aussi facilement revenir au modèle Chick-Watson en posant $n = 1$.

Severin et al. (1983) ont obtenu d'excellentes corrélations en appliquant le modèle à des essais d'inactivation en réacteur. Pour les trois microorganismes utilisés, soit *Escherichia coli*, *Candida parapsilosis* et des virus f2, les coefficients de corrélation (R^2) obtenus étaient tous supérieurs à 0,96.

Le modèle d'évènements en série semble approprié pour décrire le phénomène de photoréparation (Severin et al. 1983). La photoréparation est exprimée dans le modèle par un accroissement du niveau maximum n sans pour autant que le taux d'inactivation k ne soit affecté. Ainsi, un microorganisme passera au prochain niveau de dommage à la même vitesse, qu'il se soit réparé ou non, mais pourra accéder à un plus haut niveau, donc subir plus de dommage, avant d'être inactivé. Le modèle concorde bien avec les données présentées par Severin et al. (1983) qui ont modélisé deux essais d'inactivation de *E. coli* avec et sans photoréparation. Les deux régressions montraient un même taux k pour les deux courbes et n est passé de 5 à 8 lorsqu'en présence de photoréparation ($R^2 > 0,96$ pour les deux courbes).

La principale limite du modèle d'évènement en série est qu'il ne peut modéliser le plafonnement d'inactivation, typique des courbes d'inactivation et dont nous avons discuté plus haut. Ainsi, il n'est adéquat que pour modéliser la section où la fluence UV est inférieure au seuil à partir duquel le plafonnement est présent. L'utilisation de

ce modèle devrait être restreinte aux cas d'inactivation de certaines souches pures ne présentant pas ce phénomène, comme les virus coliphages MS2.

2.4.3 Modèle multi-cibles (*multi-target*)

Le modèle multi-cibles fut initialement développé pour modéliser d'autres types de radiations. Ce qui est connu du mécanisme d'inactivation par les UV tend à discréditer ce modèle pour les UV (Severin et al. 1983). Il a été néanmoins utilisé pour modéliser la latence initiale d'inactivation (aux plus faibles fluences). Le modèle est fondé sur l'hypothèse que les microorganismes sont agglomérés soit entre eux ou à des particules de matières en suspension. Ainsi, pour inactiver une particule, il faut atteindre toutes les cibles (microorganismes) présentes sur celle-ci. On fait l'analogie avec les méthodes d'énumération par filtration membranaire. Par cette méthode, on comptera une colonie pour chaque particule contenant au moins une unité formatrice de colonie (UFC). On doit donc inactiver tous les microorganismes pour ne pas avoir une colonie. Ainsi, chaque particule compte n_c cibles à atteindre et au fur et à mesure que les cibles sont atteintes, la probabilité d'atteindre celles restantes diminue. On exprime le modèle mathématiquement par la formule suivante :

$$N = N_0 \left[1 - (1 - e^{-kH})^{n_c} \right]$$

où n_c = nombre de cibles par particule.

Le modèle multi-cibles a permis de décrire adéquatement des courbes d'inactivation de *E. coli*, *Candida parapsilosis* et de virus f2 (Severin et al. 1983). Toutefois, le modèle est inadéquat pour prendre en compte la photoréparation puisque le nombre de cibles à atteindre n_c ne peut changer en fonction de ce facteur. Ce modèle a aussi comme désavantage majeur qu'il ne peut modéliser le plafonnement d'inactivation, typiquement présent pour de fortes fluences UV. De plus, le modèle assume que chaque entité particule/agglomérat contient un nombre égal de microorganismes et

que ceux-ci sont uniformément distribués sur la particule, ce qui n'est pas le cas. Une autre hypothèse non vérifiée est que tous les microorganismes sont aussi difficiles à inactiver.

2.4.4 Modèles empiriques

Dans le domaine des eaux usées, plusieurs modèles empiriques ont été développés pour prédire l'inactivation de bactéries coliformes à l'effluent de procédés de désinfection UV. Ces modèles ont été développés dans le but d'aider à la conception de réacteurs et ils sont spécifiques aux sites étudiés. Un exemple de ces modèles est celui développé par Emerick et al. (1993), qui l'ont développé pour modéliser l'effet de diminution du taux d'inactivation à fortes fluences :

$$N = f H^n$$

où f est un facteur empirique de qualité de l'eau exprimé par

$$f = A (MES)^a (TNF)^b N_0^c$$

et

MES = matière en suspension (mg/L),

TNF = transmittance non-filtrée à 253,7 nm

A, a, b, c, n sont des constantes empiriques.

Ce modèle à l'avantage d'être facilement adaptable puisqu'il est possible de supprimer n'importe quel des termes qui se révèle ne pas être statistiquement significatif. Ainsi, la forme utilisée du facteur de qualité de l'eau (f) et les valeurs de constantes empiriques sont obtenues grâce à une régression linéaire multiple à partir des données de qualité d'eau d'une station d'épuration particulière. Loge et al. (1996b) ont utilisé ce modèle pour décrire la cinétique d'inactivation de coliformes totaux dans l'effluent de deux stations d'épuration utilisant un traitement par boues

activées. Au total, 151 échantillons ont été utilisés. Seulement trois paramètres étaient considérés statistiquement significatifs pour décrire l'inactivation : la teneur en matières en suspension, la dose UV et, dans une moindre mesure, la transmittance. En utilisant seulement ces trois paramètres, ils ont obtenu un coefficient de corrélation (R^2) de 0,79. Ainsi, le nombre de coliformes totaux à l'affluent, N_0 , n'avait pas un effet significatif sur le modèle pour la détermination du compte à l'effluent. Dans le cadre d'une autre étude, Loge et al. (1996a) appliquèrent le modèle sur un ensemble de données provenant de 59 échantillons obtenus à l'effluent d'une station d'épuration utilisant un procédé de traitement par aération prolongée. La transmittance fut déterminée comme le seul paramètre n'étant pas statistiquement significatif.

En plus d'avoir l'avantage d'être très flexible et adaptable, ce modèle permet aussi de décrire le plafonnement d'inactivation mentionné précédemment en fonction de la dose UV. Toutefois, les paramètres obtenus lors de la calibration du modèle sont spécifiques à l'effluent et à la configuration de réacteur avec lesquelles les essais ont été réalisés.

Quatre différents modèles empiriques ont été testés par Amos et al. (2001) pour décrire l'inactivation de souches pures de bactéries *E. coli* ajoutées dans des solutions de laboratoire contenant des concentrations variables de particules et d'agents absorbants. Les quatre modèles avaient comme variables indépendantes la dose UV et la concentration de matière en suspension, et comme variable dépendante le taux d'inactivation, k . Voici la forme des quatre modèles :

(1) Le modèle log-linéaire :

$$\ln k = a + b H + c MES$$

(2) Le modèle linéaire-Arrhénius :

$$\ln k = a + b H + c MES + d H^2 + e (MES)^2$$

(3) Le modèle racine-carrée :

$$\sqrt{k} = a (H - b) (MES - c)$$

(4) Le modèle d'ordre n :

$$k = a + b H + c MES + d H^2 + e (MES)^2 + \dots \\ + f H^n + g (MES)^n$$

Dans ces quatre modèles, les lettres en minuscules sauf k sont des constantes empiriques. Dans l'étude d'Amos et al. (2001) les quatre modèles corrélaient bien aux données et modélisent adéquatement le plafonnement d'inactivation. Toutefois, en prenant en compte aussi bien la précision du modèle que la simplicité, les auteurs recommandent l'utilisation du modèle linéaire-Arrhenius. Les principales limitations de ces modèles sont de ne reposer sur aucune base théorique et, comme tous les modèles empiriques, d'être spécifique à la situation étudiée.

Gehr et al. (1998) ont proposé une formule empirique et obtenu de bonnes corrélations lors d'essais réalisés à l'aide d'un montage à faisceaux collimatés mono- et polychromatique pour inactiver des coliformes fécaux dans un effluent d'eaux usées coagulé au chlorure ferrique.

La formule empirique utilisée est la suivante :

$$N = \exp_0 \left(\frac{a}{1 + b e^{cH}} \right)$$

où a , b et c sont des constantes empiriques.

Les chercheurs observent que l'eau pour laquelle la fluence UV permettant d'atteindre une concentration de coliformes fécaux de 2500 UFC/100 mL était la plus élevée, donc la plus difficile à désinfecter, était celle ayant la distribution de particules les plus petites. Le modèle, bien que capable de décrire le plafonnement, ne repose sur aucune base théorique et ne permet donc pas d'expliquer les mécanismes d'interférence causant celui-ci.

2.4.5 Modèles permettant la description du plafonnement ou l'influence des particules

La façon la plus simple pour aborder le plafonnement d'inactivation est de considérer la courbe d'inactivation comme étant composée de deux sections linéaires, la première ayant une pente k_1 et la deuxième une pente k_2 .

$$N = N_0 e^{-k_1 H} + N_P e^{-k_2 H} \quad (\text{Tiré de USEPA, 2003})$$

Le premier terme modélise la section pouvant être décrite par le modèle de Chick-Watson et le deuxième la section représentant le plafonnement. Ainsi, on a $k_1 > k_2$.

Cairns et al. (1993) ont développé le modèle suivant, qui considère les comptes de particules de différentes tailles :

$$N = (N_0 - N_{0P}) e^{-kH} + \sum_r (N_{0r} e^{-kHT^r})$$

où

N_{0P} = concentration totale de microorganismes agrégés,

N_{0r} = concentration de microorganismes agrégés à des particules de rayon moyen r

T est la transmittance de la matière composant les particules (μm^{-1}).

Emerick et al. (2000) ont proposé un modèle pour décrire le plafonnement d'inactivation de bactéries coliformes dans des eaux usées. Le modèle sépare les bactéries en deux groupes : celles étant agrégées à la matière particulaire et les autres, non-agrégées ou libres. L'hypothèse soutenant le modèle est que les particules non-agrégées reçoivent la fluence calculée en entier et que celles étant agrégées reçoivent une fluence inférieure, ce qui expliquerait le plafonnement. Pour ce faire, le modèle utilise la relation de Chick-Watson pour décrire la partie linéaire de la courbe d'inactivation, qui représente l'inactivation des bactéries non-agrégées. On ajoute un terme à la relation de Chick-Watson qui a pour but de modéliser l'inactivation des bactéries agrégées, responsables de l'effet de plafonnement :

$$N = N_D e^{-kH} + \frac{N_P}{kH} (1 - e^{-kH})$$

où

N_D est la concentration initiale de bactéries non-agrégées

N_P la concentration initiale de particules contenant au moins une bactérie.

On remarque que, si aucune bactérie n'est agrégée, on retrouve le modèle de Chick-Watson. Le modèle repose sur deux hypothèses : la première est que la méthode d'énumération des bactéries compte comme une bactérie active, une particule contenant au moins une bactérie active. Les auteurs utilisent la méthode du nombre le plus probable avec des tubes de fermentation, mais l'hypothèse s'applique aussi à la méthode d'énumération par filtration membranaire. La seconde hypothèse est que la probabilité d'inactiver la bactérie la plus difficile à atteindre dans chacune des particules est indépendante de la taille de la particule. Ainsi, la variabilité de la dose atteignant une bactérie agrégée à une particule dépend de la profondeur à laquelle celle-ci se situe dans la particule.

Les résultats d'essais réalisés par les auteurs avec des eaux usées provenant de onze stations d'épuration utilisant des procédés variés sont bien décrits par ce modèle. De plus, les résultats semblent valider la seconde hypothèse des auteurs, en ce qui a trait à la désinfection UV de bactéries coliformes en eaux usées. Le principal avantage de ce modèle est de se baser sur une théorie réaliste et vérifiable. Toutefois, l'application du modèle est complexe puisqu'il implique de déterminer à priori les concentrations de particules contenant des bactéries (ou autres microorganismes), ce que les auteurs ont fait à l'aide d'une sonde oligonucléotide à ARNr 16S, spécifique à la famille *Enterobacteriaceae* (Loge et al. 1999).

Un premier modèle permettant de décrire la latence d'inactivation observée à faibles fluences UV lors d'essais d'inactivation de *Bacillus subtilis* a été proposé par Cabaj et al. (2000). La formule proposée est la suivante :

$$\frac{N}{N_0} = 1 - \left(1 - 10^{-kH}\right)^{10^d}$$

où d est un paramètre permettant de modéliser la latence et, lorsque aucune latence n'est présente, $d = 0$ et on retrouve le modèle de Chick-Watson. d correspond à l'ordonnée à l'origine de la portion linéaire de la courbe d'inactivation suivant la latence. La formule fut ensuite modifiée pour pouvoir modéliser aussi le plafonnement d'inactivation :

$$\frac{N}{N_0} = \frac{1 - \left(1 - 10^{-k_1 H}\right)^{10^d} + a 10^{-k_2 H}}{1 + a}$$

où k_1 et k_2 sont les taux d'inactivation de la partie linéaire et de la partie de plafonnement de la courbe d'inactivation, respectivement. a correspond au ratio de $N_{0,2}$, la concentration initiale de microorganismes responsables du plafonnement sur

$N_{0,1}$, la concentration initiale de microorganismes responsables de la partie linéaire de la courbe d'inactivation. Ainsi, les microorganismes qui seraient non-agrégés seraient pris en compte dans la valeur de $N_{0,1}$ et les microorganismes agrégés, donc protégés des UV, seraient pris en compte dans la valeur de $N_{0,2}$. Concrètement, on détermine la valeur de a en prenant $\log a$ comme étant l'ordonnée à l'origine de la régression linéaire de la zone de plafonnement de la courbe. On ne calcule donc pas $N_{0,1}$ et $N_{0,2}$ séparément. On peut aussi considérer que certains organismes ou souches plus résistantes, comme on en retrouve en milieu naturel, contribuent à augmenter le nombre de $N_{0,2}$, même sans agrégation.

Le modèle a été utilisé par Mamane-Gravetz et al. (2005) pour décrire les courbes d'inactivation de trois souches de *B. subtilis* obtenues dans des eaux de surface. Le modèle décrit adéquatement les données obtenues avec les trois différentes souches. Toutefois, celui-ci requiert un premier fractionnement de chaque courbe d'inactivation en deux droites correspondant à la section linéaire et à la section de plafonnement pour ainsi obtenir les paramètres k_1 , k_2 , a et d . Ainsi, le point où débute le plafonnement est déterminé arbitrairement, ce qui constitue la principale faiblesse du protocole.

2.4.6 Modèle Scheible

Le modèle Scheible (1987) cherche à intégrer un coefficient au modèle Chick-Watson dans le but de modéliser le plafonnement d'inactivation présent en eaux usées, où ce phénomène apparaît parfois à des doses aussi faibles que 10 mJ/cm^2 (Loge et al. 1996b). L'ajout du terme correctif s'effectue comme suit :

$$N = N_0 e^{-kH} + N_p$$

où N_p = concentration de microorganismes protégés par des particules et donc impossible à inactiver.

Le terme N_p est empirique et est fonction de la concentration de matière en suspension de la façon suivante:

$$N_p = c (MES)^m$$

où m et c sont des constantes empiriques.

On détermine la valeur de ces constantes en irradiant l'eau à traiter à une dose UV pour laquelle le phénomène de plafonnement est présent mais en variant les MES. On effectue ensuite une régression linéaire log-log. La pente de la droite est m et l'ordonnée à l'origine, c (Scheible et al., 1986). Toutefois, lors de l'utilisation du modèle pour décrire l'inactivation UV d'une eau usée, le coefficient de corrélation pour la régression linéaire permettant de trouver c et m , était plutôt faible ($R^2 = 0,46$). On peut donc penser que d'autres paramètres de qualité de l'eau interviennent dans la modélisation du phénomène de plafonnement (Loge et al. 1996b).

Chapitre 3 : MODÉLISATION DE RÉSULTATS D'INACTIVATION UV DE SPORES DE BACTÉRIES SPORULANTES AÉROBIES (BSA) INDIGÈNES ET COMPARAISON DE TROIS MODÈLES (GEHR ET WRIGHT, SCHEIBLE, MAMANE-GRAVETZ ET LINDEN)

3.1 Introduction

L'utilisation de lampes UV est en augmentation pour la désinfection d'eau de surface non-filtrée pour la production d'eau potable. La présence de matière particulaire, particulièrement lors d'événements saisonniers ou ponctuels (fortes pluies, renversements thermiques, ruissellements, déversements d'urgence, etc.) pourraient entraîner l'apparition de plafonnement d'inactivation et ainsi nuire à l'atteinte des objectifs de désinfection.

La modélisation de la cinétique d'inactivation d'organismes indigènes en eaux de surface non-filtrées s'avère importante pour mieux prédire la cinétique des procédés de désinfection UV en présence de particules et éventuellement les optimiser. Dans le cadre de ce chapitre, trois modèles de désinfection ont été appliqués sur des résultats d'inactivation UV de spores de BSA indigènes présentes dans deux eaux de surface non-filtrées de qualité différentes et une eau usée ayant subi un dégrillage primaire. Les deux premiers modèles, celui de Gehr et Wright (1998) et celui de Scheible (1987), ont été conçus dans le but de modéliser l'inactivation de bactéries coliformes en eaux usées, qui présente systématiquement un plafonnement d'inactivation à haute fluence, et qui diverge donc du modèle log-linéaire classique. Le troisième modèle, celui de Mamane-Gravetz et Linden (2005) a été utilisé pour la description de l'inactivation de spores de BSA dans des eaux de surface non-filtrées, qui comporte une latence à basses fluences et un plafonnement à hautes fluences.

Ces modèles ont été choisis, car ils permettent la description des résultats expérimentaux d'inactivation UV sans que des analyses complexes, comme la

détermination de la proportion de particules abritant des spores, ne soient réalisées préalablement. De plus, ces modèles permettent de décrire des résultats présentant un plafonnement d'inactivation.

Le choix d'un modèle servant à décrire l'inactivation UV de spores de BSA en eaux non-filtrées doit être fait selon les critères suivants :

- Bonne corrélation et précision de la prédiction par rapport aux résultats expérimentaux;
- Simplicité relative;
- Potentiel pour une interprétation des paramètres du modèle.

Les modèles sont évalués et comparés selon les critères énumérés.

3.2 Matériel et méthodes

3.2.1 Sources d'eau

Les essais ont été réalisés avec trois sources d'eau différentes pour refléter une grande plage de qualité d'eau : deux eaux de surface dont une de très bonne qualité (<2,4 mg C/L COT; <1,5 UTN) et l'autre de mauvaise qualité ($\approx$ 6 mg C/L COT; >10 UTN) et une eau usée (>10 mg C/L COT; >35 UTN). La première eau de surface provient de l'entrée d'eau brute de la station de production d'eau potable Charles-DesBaillets à Montréal, Québec, dont la source est le fleuve St-Laurent. Les échantillons d'eau ont été collectés avant tout traitement entre novembre 2005 et janvier 2006. La seconde eau de surface provient de l'entrée d'eau brute de la station de production d'eau potable de la MRC Des Moulins à Terrebonne et a été collectée avant tout traitement en octobre 2005 et avril 2006. L'eau usée provient de la station d'épuration de la ville de Montréal. Les échantillons ont été prélevés en novembre et décembre 2005 et proviennent de l'entrée d'eau, l'eau n'ayant subi qu'un dégrillage grossier. Au total, 13 échantillons ont été prélevés. Tous les échantillons ont été

placés dans des glacières en présence de glace, conservés à 4°C pour ensuite être analysés dans un délai de 24 h après la collecte.

3.2.2 Comptes de bactéries sporulantes aérobies (BSA) et caractérisation physico-chimique

La méthode utilisée pour l'énumération des spores de BSA est celle proposée par Barbeau et al. (1997). Les échantillons ont été filtrés sur des membranes ayant une porosité de 0,45µm (47mm, Millipore Corp., HAWG047S1) qui ont ensuite été déposées dans une boîte de Petri sur un tampon imbibé de 1,5 mL de Tryptic Soy Broth (TSB), additionné de CTT (2,3,5,- chlorure de tetrazolium triphenyl, Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ, USA), lequel permet de donner une couleur rouge aux colonies. Les boîtes de Petri sont ensuite pasteurisées dans un bain-marie à 75°C, pendant 15 minutes, à l'aide de sacs étanches, ce qui permet de détruire la flore microbienne végétative et de stimuler la germination des spores. Les boîtes de Petri sont finalement placées dans un incubateur à 35°C pendant 24 h et les comptes d'unités formatrices de colonies (UFC) sont effectués après l'incubation. Les mesures de carbone organique total et dissous ont été réalisées par analyseur COT (Teckmar, Dohrmann, DC180, Mason, Ohio, USA). La turbidité a été mesurée à l'aide d'un turbidimètre (Hach 2100AN, Loveland, CO, USA). L'alcalinité et le pH ont été mesurés grâce à des sondes selon les méthodes standards 2320B et 4500H (American Public Health Association (APHA), 1998), respectivement. La dureté a été mesurée par titrage selon la méthode standard 2340C (American Public Health Association (APHA), 1998).

3.2.3 Système à faisceaux collimatés basse pression et mesure du taux de fluence

Un montage à faisceaux collimatés utilisant deux lampes UV à basse pression de vapeur de mercure a été utilisé pour les essais d'inactivation. Les lampes émettent une lumière monochromatique d'une longueur d'onde de 253,7 nm dirigée au travers de tubes collimateurs afin de générer un quasi-parallélisme des faisceaux. Le

montage permettait l'irradiation de 6 réacteurs simultanément. Le taux de fluence a été mesuré grâce à un radiomètre et une sonde UV (International Light IL1400A, Newbury, MA, USA) qui avait été calibré selon les standards de la National Institute of Standards and Technology avec une précision de $\pm 6,5\%$.

3.2.4 Calcul de fluence UV

Le taux de fluence incident moyen appliqué dans un réacteur a été corrigé préalablement au calcul du temps d'irradiation nécessaire pour chaque fluence donnée selon la méthode standard proposée par Bolton et al. (2003). Ainsi, quatre facteurs de corrections interviennent pour tenir compte (i) de la non-homogénéité du taux de fluence sur la surface du réacteur (voir l'annexe B), (ii) de la réflexion d'une partie de la lumière à l'interface air-eau, (iii) de la divergence des faisceaux lumineux et (iv) de l'absorbance de l'eau à 253,7 nm. Un exemple de calcul de fluence est présenté à l'annexe A. L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Varian, Cary 100 Scan, UV-Visible, Victoria, Australie) muni d'une sphère intégrante (Labsphere, NH, USA). Afin de permettre l'irradiation de grands volumes (50 mL), des boîtes de Petri circulaires de 9 cm de diamètre ont été utilisées. Pour cette configuration, la profondeur de l'eau était alors de 1 cm. Les réacteurs étaient situés sur des plaques agitatrices permettant une légère agitation tout au long de l'irradiation.

3.2.5 Obtention des données

La concentration initiale de spores de BSA (unité formatrice de colonie: UFC/100 mL) a été déterminée comme étant la moyenne arithmétique des résultats de dénombrement d'au moins trois répliques d'eau brute, non irradiée aux UV et préalablement dispersée (voir la section 4.4.5). La concentration ainsi obtenue, dénommée N_0 , a été utilisée pour le calcul de l'inactivation. Dans le cas de l'eau filtrée préalablement à l'inactivation, le compte initial N_0 a été réalisé sur l'eau

filtrée. Pour chaque fluence d'UV, la concentration de spores survivante, N , a été obtenue de la même manière que la concentration initiale, à l'aide de trois répliques.

3.2.6 Modélisation

Trois différents modèles ont été utilisés pour décrire les résultats d'inactivation observés lors des essais réalisés avec les trois types d'eau. Le premier modèle est empirique et est une version légèrement modifiée de celui développé par Gehr et al. (1998) dans lequel la constante népérienne (e) a été remplacée par 10:

$$N = 10^{\left(\frac{a}{1 + b 10^{cH}} \right)}$$

Où a , b et c sont des paramètres empiriques et H est la fluence UV en mJ/cm^2 et N représente la concentration de spores de BSA survivant à l'irradiation UV.

Le deuxième modèle est celui développé par Scheible (1987) mais modifié pour être sur une base 10 au lieu de e :

$$N = N_0 10^{-kH} + N_p$$

N_0 est la concentration initiale de spores de BSA, k le taux d'inactivation (cm^2/mJ) et N_p représente la concentration de spores protégées de l'inactivation par la matière particulaire ou l'aggrégation microbienne. Ce modèle est une version modifiée du modèle Chick-Watson, auquel le paramètre N_p a été ajouté pour expliquer le plafonnement d'inactivation présent aux hautes fluences.

Finalement, le troisième modèle est celui utilisé par Mamane-Gravetz et al. (2005) :

$$\frac{N}{N_0} = \frac{1 - (1 - 10^{-k_1 H})^{10^d} + a 10^{-k_2 H}}{1 + a}$$

où k_1 représente le taux d'inactivation (cm^2/mJ) dans la section log-linéaire, k_2 représente le taux d'inactivation dans la section de plafonnement d'inactivation et d représente l'ordonnée à l'origine de la droite de pente k_1 et sert à décrire la latence présente à basses fluences. Finalement, a représente le ratio de la concentration de microorganismes facilement inactivées, donc inactivés au taux k_1 , sur la concentration de microorganismes plus difficilement inactivées donc inactivés au taux k_2 . Dans le cadre de ce chapitre, une version simplifiée du modèle a été utilisée pour simplifier la corrélation du modèle aux données expérimentales et en l'absence d'une latence apparente, d a été fixé à 0. Le modèle se retrouve donc sous la forme simplifiée suivante :

$$\frac{N}{N_0} = \frac{10^{-k_1 H} + a 10^{-k_2 H}}{1 + a}$$

Les trois modèles sont décrits plus en détails au chapitre 2. Précisons que le changement d'une base népérienne à une base décimale pour les modèles de Scheible et de Gehr et Wright a été fait pour obtenir des paramètres cinétiques se rapportant au log d'inactivation (base 10), unité couramment utilisée en désinfection et qui facilite la comparaison avec les paramètres du modèles de Mamane-Gravetz et Linden.

3.3. Résultats

3.3.1 Modèle de Gehr et Wright

Les paramètres a, b et c résultant de la régression sont présentés au tableau 3.1, avec le coefficient de corrélation (R^2) pour chacun des échantillons :

Tableau 3.1: Paramètres du modèle de Gehr et Wright obtenus suite à la modélisation des résultats d'essais d'inactivation UV de spores indigènes de BSA dans différentes eaux et les coefficients de corrélation reliés

	a	b	c	R^2
Rivière des Mille-Îles				
10/17/2005	1.900	-0.717	-0.009	0.90
10/18/2005	1.172	-0.741	-0.005	0.86
11/16/2005	1.337	-0.720	-0.006	0.88
1/24/2006	1.255	-0.834	-0.007	0.96
4/12/2006	0.120	-0.966	0.000	0.97
4/18/2006	2.097	-2.256	-0.050	0.99
Fleuve St-Laurent				
11/22/2005	0.005	-0.998	0.000	0.55
12/19/2005	0.425	-0.763	-0.001	-2.60
1/13/2006	1.208	-0.605	-0.050	0.97
1/18/2006	0.324	-0.902	-0.003	0.99
1/20/2006	0.041	-0.985	0.000	0.78
Eaux usées Montréal				
11/29/2005	2.758	-8.427	-0.083	0.69
12/5/2005	2.486	-1.462	-0.021	0.96

Le modèle est généralement adéquat pour décrire les résultats d'inactivation, ce qui est démontré par un coefficient de corrélation généralement élevé. Neuf des treize échantillons ont un coefficient R^2 supérieur à 0,85, ce qui représente une excellente corrélation. Toutefois, le modèle n'a pu décrire adéquatement un des échantillons obtenus du fleuve St-Laurent, pour lequel le coefficient de corrélation est négatif.

Les paramètres du modèle sont plus ou moins stables, en fonction de la source d'eau. Pour l'eau de la rivière des Mille-Îles. Les valeurs du paramètre a varient de 0,120 à 2,097; celles de b de -0,717 à -2,226 et celles de c de -0,050 à 0,000. Pour l'eau du fleuve St-Laurent, a varie de 0,005 à 1,208; b de -0,605 à -0,998 et c de -0,050 à 0,000. Finalement, pour les eaux usées de Montréal, a varie de 2,486 à 2,758; b de -1,462 à -8,427 et c de -0,021 à -0,083. Ces valeurs montrent une certaine variabilité des paramètres et ce, même au sein de la même source d'eau. En comparaison, Gehr et Wright (1998) ont obtenu des paramètres variant de 7,387 à 7,800; de -0,475 à -0,515 et de -0,077 à -0,100 pour a , b et c , respectivement, lors d'essais réalisés en faisceaux collimatés basse-pression pour la désinfection de coliformes totaux dans cinq échantillons d'eaux usées provenant de la même station. Il faut toutefois noter qu'ils utilisent le modèle sur une base népérienne (e) et non décimale (10).

Il est difficile de mettre b et c en relation avec des paramètres physiques liés à la cinétique d'inactivation. Cependant, comme c est toujours négatif (ou nul), plus la fluence augmente et plus la valeur de N tendra vers 10^a . On peut donc voir a comme étant égal au logarithme de la concentration de spores causant le plafonnement d'inactivation. Ainsi, à partir de a , on peut donc déterminer la portion de spores plus difficiles à inactiver. Le tableau 3.2 présente la concentration de spores responsables du plafonnement d'inactivation, N_p , déterminée à partir de a , ainsi que la proportion relative de ces spores sur la concentration initiale N_0 .

Tableau 3.2: Concentration de spores de BSA responsables du plafonnement d'inactivation, N_p , et proportion relative de cette concentration

	$N_p = \log a$ UFC/100mL	N_p/N_0 %
Rivière des Mille-Îles		
17-10-2005	79	0.3%
18-10-2005	15	0.2%
16-11-2005	22	0.4%
24-01-2006	18	0.6%
12-04-2006	1	0.0%
18-04-2006	125	6.9%
Fleuve St-Laurent		
22-11-2005	1	0.5%
19-12-2005	3	3.3%
13-01-2006	16	23.0%
18-01-2006	2	0.5%
20-01-2006	1	0.3%
Eaux usées Montréal		
29-11-2005	573	0.9%
05-12-2005	306	1.2%

La proportion de spores responsables du plafonnement d'inactivation est généralement faible, inférieure à 1% pour neuf des treize échantillons. Les valeurs pour les échantillons du 10 avril 2006 et de 13 janvier 2006 se démarquent en étant beaucoup plus élevés, 6,9% et 23,0%, respectivement.

3.3.2 Modèle Scheible

Les paramètres obtenus suite à la régression sont présentés dans le tableau 3.3 :

Tableau 3.3: Paramètres du modèle de Scheible obtenus suite à la modélisation des résultats d'essais d'inactivation UV de spores indigènes de BSA dans différentes eaux et les coefficients de corrélation reliés

	k cm ² /mJ	N _p UFC/100mL	R ²
Rivière des Mille-Îles			
17-10-2005	0.038	105	0.91
18-10-2005	0.056	51	0.78
16-11-2005	0.039	46	0.83
24-01-2006	0.032	28	0.93
12-04-2006	0.032	31	0.94
18-04-2006	0.020	15	0.65
Fleuve St-Laurent			
22-11-2005	0.031	0	0.72
19-12-2005	0.019	0	0.25
13-01-2006	0.048	12	0.77
18-01-2006	0.057	9	0.99
20-01-2006	0.038	8	0.83
Eaux usées Montréal			
29-11-2005	0.062	572	0.68
05-12-2005	0.034	311	0.96

Généralement, le modèle semble adéquat pour décrire les résultats d'inactivation des différentes eaux. Le coefficient de corrélation est supérieur à 0,8 pour sept des treize échantillons et supérieur à 0,7 pour tous les échantillons sauf deux. Seulement un échantillon présente un très faible coefficient de corrélation ($R^2 = 0,25$). Les taux d'inactivation k sont du même ordre pour tous les échantillons peu importe la provenance de ceux-ci. Ainsi, le taux k varie de 0,020 à 0,056 cm²/mJ, de 0,019 à 0,057 cm²/mJ et de 0,034 à 0,062 cm²/mJ, pour les échantillons de la rivière des Mille-Îles, du fleuve St-Laurent et des eaux usées de Montréal, respectivement. Les

valeurs de N_p sont plutôt variables, passant de faibles valeurs pour l'eau du fleuve St-Laurent (0 à 12 spores/100mL) à des valeurs élevées pour les eaux usées de Montréal (311 et 572 spores/100mL), avec l'eau de la rivière des Mille-Îles entre les deux (15 à 105 spores/100mL).

En utilisant ces données, on obtient la proportion de spores de BSA ainsi « protégées », qui figure au tableau 3.4 :

Tableau 3.4: Proportion de spores de BSA indigènes « protégées » dans trois sources d'eau en fonction de la date d'échantillonnage.

	N_p/N_0 (%)
Rivière des Mille-Îles	
17-10-2005	0,5%
18-10-2005	0,6%
16-11-2005	0,9%
24-01-2006	0,9%
12-04-2006	0,8%
18-04-2006	0,8%
Fleuve St-Laurent	
22-11-2005	0,0%
19-12-2005	0,0%
13-01-2006	16,6%
18-01-2006	2,0%
20-01-2006	2,2%
Eaux usées Montréal	
29-11-2005	0,9%
05-12-2005	1,2%

La proportion des spores de BSA responsables du plafonnement d'inactivation est généralement faible avec neuf échantillons sur treize présentant une proportion inférieure à 1%. Seul l'échantillon du 13 janvier se démarque avec une proportion élevée de spores protégées ou plus résistantes de 16,6%.

3.3.3 Modèle de Mamane-Gravetz et Linden

Les résultats de la régression sont présentés au tableau 3.5 :

Tableau 3.5: Paramètres du modèle de Mamane-Gravetz et Linden obtenus suite à la modélisation des résultats d'essais d'inactivation UV de spores indigènes de BSA dans différentes eaux et les coefficients de corrélation reliés

	k_1 cm ² /mJ	k_2 cm ² /mJ	a	R^2
Rivière des Mille-Îles				
17-10-2005	0,038	0,000	0,006	0,91
18-10-2005	0,055	0,010	0,007	0,78
16-11-2005	0,046	0,007	0,047	0,89
24-01-2006	0,032	0,000	0,009	0,93
12-04-2006	0,032	0,001	0,010	0,94
18-04-2006	0,037	0,000	0,067	0,92
Fleuve St-Laurent				
22-11-2005	0,031	-	0,000	0,72
19-12-2005	0,018	-	0,000	0,13
13-01-2006	0,029	-	0,000	0,73
18-01-2006	0,060	0,025	0,154	0,99
20-01-2006	0,032	-	0,000	0,85
Eaux usées Montréal				
29-11-2005	0,062	0,000	0,018	0,68
05-12-2005	0,033	0,004	0,014	0,99

Ce modèle fournit des coefficients de corrélation élevés, soit de plus de 0,8, pour presque la moitié des échantillons. Les autres échantillons sont assez bien décrits ($R^2 > 0,7$) par le modèle, à deux exceptions près. Le taux d'inactivation k_1 varie peu pour l'eau de la rivière des Mille-Îles, de 0,032 à 0,055 cm²/mJ, et un peu plus pour l'eau du fleuve St-Laurent et des eaux usées de Montréal, soit de 0,018 à 0,060 cm²/mJ et de 0,033 à 0,062 cm²/mJ, respectivement. Le taux k_2 est généralement faible avec des valeurs inférieures ou égales à 0,010 cm²/mJ pour huit des neuf échantillons. Aucune valeur de k_2 n'est donné pour les échantillons ayant un ratio a de zéro, ceci ayant

l'effet d'annuler le terme prenant en compte k_2 . Le ratio a a varié de 0,000 à 0,154 avec une grande majorité des valeurs inférieures à 0,05, l'échantillon du 18 janvier 2006 en provenance du fleuve St-Laurent étant l'exception ($a = 0,0154$). La figure 3.1 présente schématiquement la signification des trois paramètres du modèle :

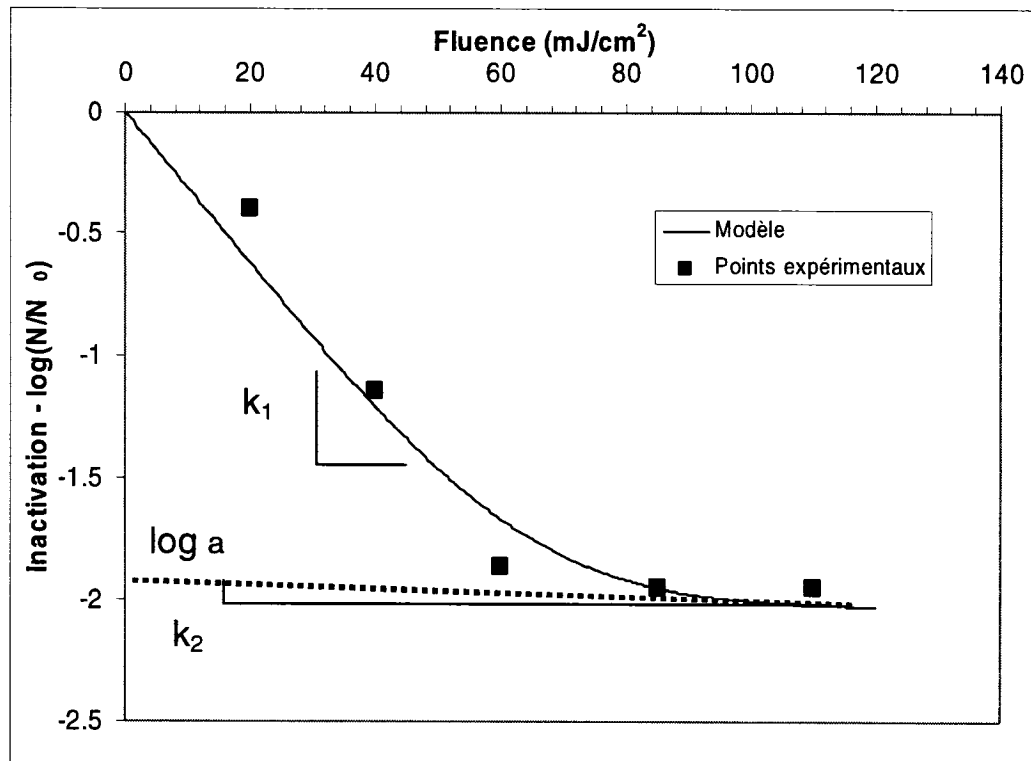


Figure 3.1: Résultats de l'essai d'inactivation UV de spores de BSA indigènes dans l'eau de la rivière des Mille-Îles le 24 janvier 2006 ainsi que la prédiction du modèle de Mamane-Gravetz et Linden avec la présentation schématique des paramètres du modèle.

3.4 Discussion

3.4.1 Les taux d'inactivation k , k_1 et k_2

Les valeurs de pentes k_1 sont très rapprochées de celles de k du modèle Scheible, ce qui était attendu puisque ces deux paramètres correspondent au taux d'inactivation des spores libres ou plus sensibles aux UV. Pour sept des treize échantillons, les valeurs de k et k_1 sont égales ou ont moins de $0,001 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ de différence. k varie entre $0,019$ de $0,062 \text{ cm}^2/\text{mJ}$, pour l'ensemble des échantillons. En comparaison, k_1 varie entre $0,018$ et $0,062 \text{ cm}^2/\text{mJ}$.

Ces valeurs sont semblables à celles paraissant dans la littérature suite à des essais d'inactivations de la souche ATTC6633 de *Bacillus subtilis* réalisés à l'aide de montage à faisceaux collimatés. Chang et al. (1985) ont observé une cinétique d'inactivation comprenant une latence pour les fluences de 0 à $30 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ suivie d'une inactivation log-linéaire de pente égale à environ $0,09 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ lors d'essais réalisés en eau ultra-pure. D'autres auteurs rapportent une courbe d'inactivation presque identique à celle rapportée par Chang et al. (1985) avec une latence jusqu'à $20 \text{ mJ}/\text{cm}^2$ suivi d'une cinétique log-linéaire de pente égale à $0,09 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ lors d'essais réalisés dans des conditions similaires (Sommer et al. 1998). Les valeurs relatées sont probablement inférieures à celles présentées dans la présente étude car les essais ont été réalisés en eau ultra-pure sans interférence particulière, ce qui n'est pas le cas dans la présente étude. Cela étant dit, les valeurs de k et de k_1 ne sont pas directement liées aux paramètres de qualité des échantillons qui sont présentés au tableau 3.6.

Tableau 3.6: Paramètres physico-chimiques et concentration de spores de BSA des échantillons d'eau utilisés pour les essais d'inactivation UV

	Spores BSA UFC/100mL	Turbidité UTN	Transmittance@254nm %	COT mg C/L	COD mg C/L	pH	Dureté mg CaCO ₃ /L	Alcalinité mg CaCO ₃ /L
Fleuve St-Laurent								
11/22/2005	2.0E+02	1.47	89.4	2.34	2.31	7.8	120	85
12/19/2005	8.0E+01	1.04	90.0	2.20	2.18	7.6	120	82
1/13/2006	7.0E+01	0.75	94.4	2.33	2.33	7.8	120	85
1/18/2006	4.6E+02	1.40	92.4	2.24	2.22	7.6	118	81
1/20/2006	3.9E+02	1.31	87.9	2.19	2.17	7.8	120	84
Rivière des Mille-Îles								
10/17/2005	2.3E+04	36.2	39.9	6.19	6.05	N/D	100	N/D
10/18/2005	8.0E+03	16.7	52.7	6.08	6.05	N/D	94	N/D
11/16/2005	5.1E+03	14.2	53.4	5.98	5.91	7.3	92	63
1/24/2006	3.0E+03	11.1	53.8	5.95	5.82	7.0	64	46
4/12/2006	3.7E+03	28.0	52.9	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
4/18/2006	1.8E+03	13.1	54.8	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D
Eaux usées de Montréal								
11/29/2005	6.2E+04	43.0	49.4	13.1	6.45	7.3	248	161
12/5/2005	2.5E+04	77.0	38.3	31.5	11.1	7.1	232	189

Les valeurs de turbidité des échantillons provenant du fleuve St-Laurent ne dépassent jamais 1,5 UTN par rapport à des valeurs entre 11,1 et 36,2 UTN pour les échantillons de la rivière des Mille-Îles et 43 et 77 UTN pour les eaux usées de Montréal. Toutefois, les valeurs des pentes k et k_1 ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,2$), lorsque l'on compare les valeurs par source d'eau. La différence entre les valeurs rapportées et celles présentées ici peut aussi être due à une différence dans la composition de la flore microbienne indigène, qui varie géographiquement et dans le temps.

Les conditions de sporulation affectent grandement la susceptibilité des spores de BSA aux UV (Nicholson et al. 1999). Lors d'une étude réalisée dans des conditions similaires, les chercheurs ont obtenu une cinétique d'inactivation entièrement log-linéaire de pente d'environ $0,052 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ (Sommer et al. 1999), ce qui entre dans la plage des taux d'inactivation obtenus dans la présente étude. Toutefois, ces valeurs sont supérieures à celles publiées récemment lors d'essais d'inactivation de spores de BSA indigènes réalisés avec des eaux de surface, qui varient de $0,013$ à $0,022 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ (Mamane-Gravetz et al. 2004b). Les cinétiques observées lors de onze essais réalisés avec six eaux de surfaces différentes étaient toutes entièrement log-linéaire.

Cette différence pourrait, encore ici, être expliquée par une différence dans la composition de la flore microbienne indigène, qui varie géographiquement et dans le temps. En contrepartie, les valeurs k sont de deux à quatre fois inférieures à celles obtenues par Mamane-Gravetz et al. (2005), qui ont réalisé des essais sur trois souches de *B. subtilis* obtenues en eau de surface mais cultivées, purifiées et resporulées en laboratoire. La différence entre les taux d'inactivation est vraisemblablement due aux conditions de resporulation qui affectent grandement la susceptibilité des spores de BSA aux UV (Nicholson et al. 1999).

Les valeurs de k_2 sont généralement plus faibles que celles obtenues par Mamane-Gravetz et Linden (2005). En effet, celles-ci sont légèrement inférieures à $0,02 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ lors des différents essais d'inactivations réalisés avec des souches indigènes de *Bacillus subtilis* alors que les valeurs obtenues dans le cadre de la présente étude n'atteignent jamais $0,01 \text{ cm}^2/\text{mJ}$ sauf dans un cas sur neuf. Toutefois, ces auteurs séparent les courbes d'inactivation en deux sections, une d'inactivation linéaire traditionnelle, et une où on observe un plafonnement d'inactivation. Ils mesurent ensuite les pentes par régression linéaire des données. La faiblesse de ce protocole est que le point de jonction entre les deux sections est choisi arbitrairement par les chercheurs. Il est donc possible que les différences entre les résultats soient dues à cette différence dans les procédures de calcul des taux d'inactivation.

3.4.2 Proportions de spores « difficiles » à inactiver

Les proportions de spores « difficiles » à inactiver obtenues à l'aide du paramètre a du modèle de Gehr et Wright et du paramètre N_p du modèle Scheible sont généralement rapprochées. Pour cinq des six échantillons provenant de la rivière des Mille-Îles, le modèle Scheible a obtenu des proportions légèrement supérieures à ceux du modèle de Gehr et Wright. Dans un des six cas (l'échantillon du 18 avril 2006), le modèle Scheible a obtenu une proportion fortement supérieure (6,9% par rapport à 0,8%). Les différences entre les proportions obtenues par les deux modèles

sont plus accentuées pour les échantillons provenant du fleuve St-Laurent. Cette différence est probablement due aux très basses concentrations de spores « difficiles » à inactiver (<20 UFC/100 mL) pour ces échantillons, ce qui accentue l'importance de l'erreur expérimentale. Aussi, il faut tenir compte du fait que les modèles sont différents mathématiquement, ce qui peut entraîner des différences aux niveaux des paramètres de modélisation obtenus pour certains échantillons. Les deux modèles ont obtenu les mêmes proportions pour les deux échantillons d'eaux usées.

Environ 24% des bactéries présentes dans différentes eaux de surface sont agrégées à des particules selon Parker et al. (1995). Des valeurs obtenues suite à la centrifugation d'eaux usées pour enlever les particules décantables, montrent que de 20% à 70% des spores de *Clostridium perfringens* présents dans les échantillons étaient agrégés à de grosses particules (Characklis et al. 2005). Comme les spores de *C. perfringens* sont de taille semblable aux spores de *B. subtilis* et que les deux se retrouvent en grande partie dans les sols (Prescott et al. 2003), il est surprenant que les pourcentages d'agrégation présentés ici soient beaucoup plus faibles, même dans les échantillons d'eaux usées. De façon similaire, les proportions présentées aux tableaux 3.2 et 3.4, sont plutôt faibles en comparaison mais différents facteurs peuvent expliquer cet écart. Premièrement, les seules bactéries considérées dans le cadre de la présente étude sont les spores de BSA, qui ne sont qu'une fraction des bactéries retrouvées en eaux de surface. Deuxièmement, le modèle considère ces bactéries comme étant quasi-impossible à inactiver car protégées. Dans la réalité, une certaine inactivation, bien qu'amoindrie, continue d'être mesurée en augmentant la fluence. Ainsi, le paramètre N_p n'est qu'une simplification. De la même façon, le modèle de Gehr et Wright pose un plafonnement asymptotique, valeur qui ne pourra jamais être dépassée. Finalement, la proportion de bactéries protégées de la lumière UV se doit d'être inférieure à la proportion de bactéries agrégées à des particules puisqu'une fraction d'entre elles n'est pas complètement entourée par la particule et est donc exposée la lumière UV. Il est donc possible qu'une fraction de spores

beaucoup plus grande soit agrégée à des particules mais que seulement une très petite fraction soit complètement protégée.

Le ratio a du modèle de Mamane-Gravetz et Linden est généralement plus élevé que la fraction de spores difficile à inactiver, ce qui était attendu, puisque celui-ci est le ratio des deux catégories de spores (facile et difficile à inactiver) et non la proportion des spores totales. Ceci est vrai pour les échantillons provenant de la rivière des Mille-Îles et les eaux usées mais pas pour les échantillons du fleuve St-Laurent. Le modèle a posé $a = 0$ pour quatre des cinq échantillons, indiquant que la cinétique d'inactivation pour ces quatre échantillons est entièrement log-linéaire, sans plafonnement d'inactivation.

Bien qu'il semble illogique, à première vue, que les trois modèles ne soient pas cohérents au niveau de la présence ou non d'un plafonnement d'inactivation dans la cinétique des échantillons du fleuve St-Laurent, l'explication réside dans leur forme mathématique respective. Premièrement, le modèle de Gehr et Wright, de par sa forme, ne peut poser $a = 0$, car ceci aurait pour effet que $N = 1$, pour toutes fluences. Celui-ci formera donc toujours une forme légèrement courbe de forme asymptotique, qui suppose un certain plafonnement. Il faut ainsi limiter l'interprétation qui est faite de a au niveau de l'agrégation, particulièrement lorsque les concentrations de spores sont faibles, comme pour l'eau du fleuve St-Laurent. Deuxièmement, le paramètre N_p du modèle Scheible pose un plafonnement complet (sauf si $N_p = 0$) de l'inactivation au bout de la courbe où la fluence est la plus élevée. Ainsi, lors de la régression, le modèle fixera $N_p > 0$ si le ou les dernier(s) point de la courbe sont légèrement au-dessus de la droite de pente k , ce qui ne signifie pas nécessairement que certaines spores sont impossibles à inactiver. Les points expérimentaux sont rarement parfaitement linéaires à cause d'un certain bruit de fond expérimental. On voit à la figure 3.2 que, malgré qu'il ne soit aucunement évident qu'un plafonnement d'inactivation est présent, le modèle fixe $N_p = 8$.

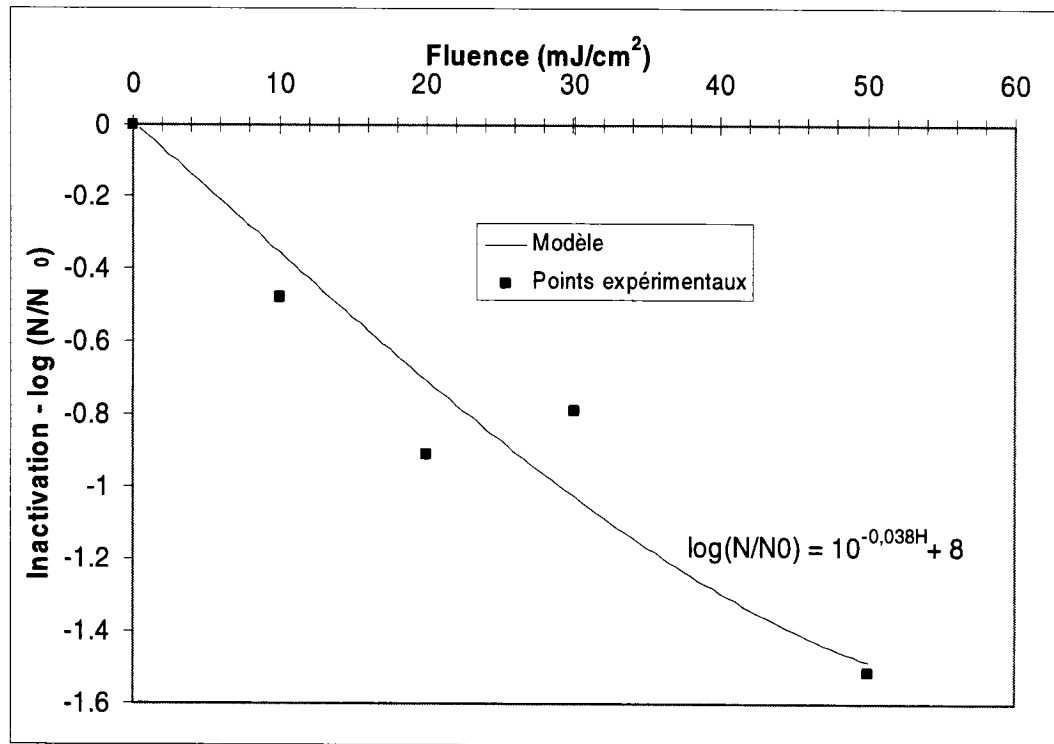


Figure 3.2 : Résultats expérimentaux et courbe obtenue à partir du modèle Scheible pour les résultats d'essai d'inactivation avec l'échantillon d'eau du fleuve St-Laurent prélevé le 20 janvier 2006

De la même façon, il faut être prudent en considérant a comme le ratio de la concentration de microorganismes difficiles à inactiver (ou agrégés à des particules) sur la concentration de microorganismes faciles à inactiver (ou flottant librement). En fait, dans la formule mathématique du modèle, ce paramètre correspond à l'ordonnée à l'origine de la droite obtenue en prolongeant la section linéaire de plafonnement d'inactivation. Ainsi, bien que cette valeur soit utile pour déterminer quel niveau d'inactivation il est possible d'atteindre avant d'observer un plafonnement dans l'inactivation, celui-ci est donc avant tout un paramètre mathématique duquel on extrapole des renseignements sur l'agrégation microbienne.

3.4.3 Comparaison des trois modèles

3.4.3.1 Bonne corrélation et précision de la prédiction par rapport aux résultats expérimentaux

Au niveau de la corrélation et de la précision de la prédiction du modèle par rapport aux résultats expérimentaux, peu de différences sont observées entre les modèles. En effet, il semble que pour chaque échantillon d'eau, tous les modèles obtiennent un coefficient de corrélation pratiquement identique. Ainsi, il semble donc que les trois modèles soient également adéquats pour décrire les résultats expérimentaux obtenus dans le cadre de cette étude. D'ailleurs, les trois modèles ont des coefficients de corrélation généralement élevés ($R^2 > 0,8$ pour neuf échantillons sur treize) et obtiennent tous une corrélation moins élevée pour les résultats de l'eau du fleuve St-Laurent. Notons que ces résultats sont beaucoup moins stables étant donné la faible concentration de spores de BSA à l'eau brute, ce qui amplifie l'effet de l'erreur expérimentale.

3.4.3.2 Simplicité d'utilisation

Une différence plus marquée est présente entre les modèles du point de vue de la simplicité d'usage. Le modèle de Gehr et Wright est le moins intuitif. La forme doublement exponentielle de ce dernier en plus du caractère empirique des paramètres rendent son utilisation et son optimisation complexes, en plus de compliquer la stabilité de la régression nécessaire pour en déterminer les paramètres. En comparaison, les deux autres modèles sont d'une relative simplicité. En effet, les deux modèles ne sont que modification, par addition d'une constante (Scheible) ou par addition de deux droites (Mamane-Gravetx et Linden), du modèle de Chick-Watson. Ainsi, tant au niveau mathématique que conceptuel, l'effet des différents paramètres sur la modélisation est simple à visualiser.

3.4.3.3 Potentiel pour une interprétation des paramètres du modèle

Du point de vue de la signification physique des paramètres des modèles, le modèle de Gehr et Wright arrive dernier puisque les paramètres de celui-ci n'ont aucune signification physique, à l'exception de a qui peut servir à la détermination du degré de plafonnement. Les deux autres modèles ont comme point commun d'avoir le taux d'inactivation (k ou k_1) des microorganismes comme paramètre. La différence repose sur l'interprétation faite par les modèles de ce paramètre. Ainsi, le modèle de Scheible interprète k comme étant le taux d'inactivation ou la sensibilité des microorganismes atteint par la lumière UV. Ce paramètre prend donc en compte les microorganismes flottant librement et ceux ayant une certaine protection contre les UV. Les seuls microorganismes qui ne sont pas considérés par ce paramètre sont ceux qui sont entièrement protégés et qui, théoriquement, ne pourrait jamais être inactivés par la lumière UV. En contrepartie, le modèle de Mamane-Gravetz et Linden considère que le taux d'inactivation k_1 prend en compte les microorganismes facilement inactivés, donc peu ou pas protégés. Tous ceux étant fortement protégés ou difficilement inactivés sont pris en compte par k_2 . Cette dernière façon de procéder à l'avantage d'être plus réaliste puisqu'il est rare, malgré la présence d'un fort ralentissement, que l'inactivation plafonne complètement. Notons toutefois que même si ce dernier modèle est plus réaliste au point de vue de la modélisation de la section de la courbe d'inactivation où un plafonnement est présent, celui-ci ne permet aucunement d'approfondir la cause de ce plafonnement.

De plus, le modèle Mamane-Gravetz et Linden intègre un paramètre, a , que les chercheurs présentent comme étant le ratio des microorganismes difficilement inactivés sur ceux facilement inactivés. Toutefois, cette affirmation reste hypothétique puisque rien ne permet d'affirmer que ce paramètre n'est autre chose qu'une entité mathématique représentant l'ordonnée, au point de transition entre les zones d'inactivation de pente k_1 et k_2 . On peut toutefois considérer que ce dernier modèle offre un plus grand potentiel pour une interprétation de ses paramètres que

le modèle Scheible, qui simplifie davantage la modélisation du plafonnement d'inactivation.

3.5 Conclusions

L'objectif de cette section était de vérifier si trois modèles tirés de la littérature sont adéquats pour décrire les résultats d'essais d'inactivation UV de spores de BSA indigènes dans deux eaux de surface et une eau usée et ensuite comparer les modèles entre eux, selon trois critères prédéterminés.

Il en ressort que les trois modèles sont généralement adéquats pour décrire les résultats d'inactivation, ce qui est observable par le coefficient de corrélation (R^2) généralement élevé. Les trois modèles sont équivalents par rapport à la corrélation avec les résultats expérimentaux puisque pour chaque échantillon d'eau, le coefficient de corrélation est généralement égal pour chacun des modèles.

Du point de vue de la simplicité d'utilisation et du potentiel d'interprétation des paramètres, les trois modèles ne sont pas tous égaux. Le modèle de Gehr et Wright est celui qui ressort comme étant le plus complexe de par sa structure doublement exponentielle. Aussi, comme ses trois paramètres sont entièrement empiriques, ils ne reflètent aucunement la réalité physique de la désinfection. Les modèles de Scheible et de Mamane-Gravetz sont également simples au niveau de leur utilisation, étant des variations du modèle de Chick-Watson. Toutefois, le modèle de Mamane-Gravetz possède les paramètres qui permettent une plus grande interprétation physique.

Bien que les trois modèles réussissent à décrire les résultats d'inactivation d'organismes indigènes dans des eaux de qualité très variables, ils n'offrent aucune valeur prédictive quant à l'efficacité de la désinfection UV sans filtration préalable. Ainsi, pour pouvoir être utilisé dans un cadre réel, un suivi préalable des variations des paramètres sur une longue période est recommandé, ce qui permettrait d'étudier

les variations temporelles des paramètres. Toutefois, même si deux des trois modèles ont été conçus pour la description de l'inactivation UV en eaux usées, les trois modèles peuvent aussi être utilisés en eaux de surface non-filtrées. Dans le domaine de l'eau potable, il manque toujours un modèle qui permettrait de mettre en relation un ou des paramètres physico-chimiques ou microbiologiques avec l'efficacité de la désinfection. À cette fin, l'avenue présentant le plus de potentiel est d'obtenir la concentration de particules ayant un ou des organismes agrégés, comme pour le modèle d'Emerick et al. (2000) pour les eaux usées. La principale difficulté réside quant à la méthode pour évaluer cette concentration. La méthode utilisée par Emerick et al. (2000) consiste en une sonde spécifique aux coliformes fécaux et ne peut pas être utilisée pour d'autres organismes indicateurs en eau potable. Ainsi, une telle méthode devrait être accessible pour évaluer avec précision la proportion agrégée de la concentration de l'organisme choisi pour les essais de désinfection. Plus de recherche est donc nécessaire pour obtenir facilement des comptes d'organismes indicateurs étant agrégés à des particules.

Chapitre 4 : IMPACTS DE LA DISPERSION ET DE LA FILTRATION SUR LA
CINÉTIQUE DE DÉSINFECTION UV DE SPORES INDIGÈNES
(ARTICLE SCIENTIFIQUE)

Le contenu du présent chapitre comprend un article soumis au *Journal of the American Water Works Association*. Cet article présente les détails d'un protocole d'irradiation UV dans lequel des étapes de dispersion par malaxage et de filtration ont été intégrées. Ce protocole a été appliqué sur deux eaux de surface et une eau usée dans lequel des concentrations variables de spores aérobies indigènes étaient présentes. Une discussion relative à la modélisation des résultats obtenus y est également présentée. Finalement, les impacts de ces résultats sur l'utilisation de la désinfection UV sur des eaux non-filtrées est abordée.

BLENDING AND FILTRATION EFFECTS ON UV KINETICS OF INDIGENOUS SPORES

Gabriel Chevrefils, Éric Caron, Benoit Barbeau, Pierre Payment, Michèle Prévost

4.1 ABSTRACT

A UV irradiation protocol was developed and applied on samples from a high quality surface water, a surface water impacted by municipal wastewater effluents, combined sewer overflows, and a municipal wastewater. Samples were either dispersed by a combination of high speed blending (8,000 rpm) and the addition of a surfactant (Zwittergent 3-12) before UV or after UV irradiation, or filtered on 8 µm prior to irradiation and then blended. Results were described by using a parallel Chick-Watson model which allows for the definition of tailing. Inactivation results showed no tailing for the high quality water. However tailing was present for almost all the other samples. Blending and filtration were shown to increase inactivation rates and decrease tailing levels for all water with higher turbidity and particle content. Filtration on 8 µm removed tailing on all samples on which tailing was observed.

4.2 INTRODUCTION

Ultraviolet (UV) light disinfection, already widely used to disinfect wastewater, is the object of growing interest in the drinking water industry because of its unique ability to inactivate *Cryptosporidium* (Clancy et al. 1998). However, some water quality parameters, such as absorbance, can affect the performance of this technology. Particulate matter can also considerably undermine the process performance by absorbing, dispersing or blocking UV light, which reduces the amount of energy actually reaching the organisms present in the water (Qualls et al. 1983a). The effect of the presence of particles on the UV inactivation of coliform bacteria in wastewater effluents is well documented (Jolis et al. 2001; Loge et al. 2001; Emerick et al. 2000; Emerick et al. 1999; Loge et al. 1999; Parker et al. 1995; Emerick et al. 1993;

Scheible, 1987; Qualls et al. 1985; Qualls et al. 1983a). Most authors agree that the tailing in inactivation, commonly observed for fluences over 30 mJ/cm², is the result of the protection of bacteria by the flocs present in wastewater effluents (Loge et al. 2001; Parker et al. 1995; Scheible, 1987). This phenomenon can limit the level of disinfection that can be achieved.

Most of the recent research on the interference caused by particles in drinking water was conducted using seeded organisms, and much of it using synthetic water (USEPA, 2003). Batch et al. (2004) observed a similar degree of inactivation of seeded MS2 viruses spiked into treated waters with variable turbidity. Passantino et al. (2004) did not detect any protection of seeded MS2 in unfiltered surface water, even when the turbidity was increased to 12 NTU using clay particles. These results are in agreement with previous studies (Wobma et al. 2004; Oppenheimer et al. 2002; Passantino et al. 2001). Mamane-Gravetz and Linden (2004a) do not report any notable differences in the inactivation of seeded *Bacillus subtilis* spores in water loaded with clay particles to increase turbidity up to 5 NTU. They did note a small decrease of inactivation following flocculation using alum. Similar conclusions were reached in studies on the inactivation of seeded *Cryptosporidium parvum* and *Giardia muris* (oo)cysts in waters of varying turbidity (Oppenheimer et al. 2002; Craik et al. 2002). These studies provide insight into the effects of the dispersion of UV light by particles and the adsorption of organisms onto particles in drinking water sources. However, they do not address the impact of the shielding of UV light by naturally occurring particles containing one or more organisms.

Particles can be generated in the laboratory to address the issue of the protective effect of embedment while still using seeded organisms such as MS2 coliphage. This approach is especially relevant to studying the impact of coagulation and flocculation on the resistance of floc associated microorganisms in downflow disinfection processes. The formation of particles by the addition of alum did not provide additional protection to indigenous coliform bacteria in a bench-scale experiment (Cantwell et al. 2005b). In opposition, the addition of elevated concentrations of

humic substances (200 mg/L) and organic wastewater particles of significantly decreases the level of inactivation of MS2 coliphage and T4 bacteriophage under conditions of high turbidity (turbidity of 70-100 NTU) and very high DOC (Templeton et al. 2005).

When considering the potential impact of turbidity and particles on UV disinfection of unfiltered water, the impact of natural particles found in the source can be assessed. The most direct approach to achieve this goal is to measure the inactivation of particle associated indigenous organisms such as the spores of aerobic spore-forming bacteria (SASFB). SASFB are naturally present in surface water and are principally of the genus *Bacillus*, which are usually not pathogenic (Rice et al. 1996). Their increase in concentration in surface waters can be correlated with an increase of turbidity (Nieminski et al. 2000), and is often observed after significant rainfall and the resulting soil washout (Rice et al. 1996). Most often, SASFB are present in sufficient numbers in surface waters to allow their decrease to be measured along a treatment process (Nieminski et al. 2000), and enumerating them is easy, fast, low cost and reliable (Barbeau et al. 1997). The results of inactivation assays found in the literature show that spores of pure strains of *B. subtilis* are very resistant to UV (Table 4.1) (Mamane-Gravetz et al. 2004b; Nicholson et al. 1999; Sommer et al. 1999; Sommer et al. 1998; Chang et al. 1985). Spores indigenous to surface waters (Mamane-Gravetz et al. 2004b) and to soils (Nicholson et al. 1999) are more even resistant than those from pure or cultivated laboratory strains. Indigenous SASFB offer the advantage of studying the interaction between microorganisms and particles present naturally in waters without the need to seed organisms or to add synthetic turbidity and organic matter. The elevated resistance of SASFB to UV is also an advantage because of the expanded scale of their response when compared to that of *Cryptosporidium*, which allows small but significant effects on water quality to be measured. Mamane-Gravetz et al. (2004b) report a linear inactivation kinetics of indigenous aerobic spores during collimated beam assays using surface water from six different sources. No tailing or other effects of turbidity or particle presence were noted in waters with moderate

turbidity (<5 NTU). Similarly, Cantwell et al. (2005a) observed a linear inactivation kinetics of indigenous aerobic spores during pilot plant assays with surface water containing over 8,000 particles between 10 and 50 μm in size/100 mL.

4.3 OBJECTIVE

The primary objective of this project was to study the inactivation of indigenous SASFB in three source waters to evaluate if their natural state of aggregation or association with particles offers them any significant protection from by 254 nm ultraviolet (UV) light. The impact of particles was estimated by studying the effect of physico-chemical dispersion and membrane filtration (8 μm) on the inactivation rates of SASFB in high-quality surface water, in surface water impacted by municipal wastewater and in wastewater. The dispersion step causes partial break-ups of aggregates and particles. Membrane filtration reveals the impact of the removal of large particles and provides an estimation of the proportion of the total spore population that is either not associated with particles or present in large agglomerates. The secondary objective was to monitor the impact of temporal variations in water quality on the trends observed.

4.4 MATERIAL AND METHODS

4.4.1 Source waters

Inactivation assays were conducted using three source waters with varying physical, chemical and microbial characteristics. Ranges of water quality characteristics are presented in Table 4.2. The Charles DesBaillets water treatment plant (WTP) (Montreal, QC) draws its water from a channel of the St Lawrence River and is considered a high-quality surface waters with low turbidity (<1.5 NTU) and TOC (<2.4 mg C/L). Raw water from the Mille-Îles River was collected at the intake of the Régie Intermunicipale des Moulins WTP. This source water is characterized by a high organic content (TOC $\approx$ 6 mg C/L) and varying turbidity (10 to >35 NTU), and is impacted by wastewater effluents and combined sewer overflows, as indicated by the

rather high fecal coliform concentrations. Finally, screened raw wastewater from the Communauté Urbaine de Montréal Plant was used to represent the condition of extreme adverse potential contamination (>10 mg C/L TOC; >35 NTU) of a source water. Thirteen sampling campaigns were conducted between October 2005 and April 2006. Samples were collected, shipped on ice, maintained at 4°C upon reception and analyzed within 24 h.

4.4.2 Spores of aerobic spore-forming bacteria (SASFB): enumeration, physico-chemical parameters and particle-counting

SASFB were enumerated using the method of Barbeau et al. (1997), as follows: samples are filtered on a membrane¹ with a porosity of $0.45\ \mu\text{m}$ (47 mm diameter) and subsequently placed on Petri pads containing 1.5 mL of Tryptic Soy Broth (TSB) and TTC². The Petri pads are pasteurized in a water bath at 75°C for 15 minutes in waterproof bags to inactivate the active microbial flora and stimulate spore germination. Finally, the Petri pads are incubated at 35°C for 24 h. Fecal coliforms were enumerated following method 9222D (American Public Health Association (APHA), 1998). Total and dissolved organic carbon were measured with a TOC analyzer³. Turbidity was measured with a turbidimeter⁴. Alkalinity and pH were measured with probes following methods 2320B and 4500H (American Public Health Association (APHA), 1998) respectively. Hardness was measured by titration following standard method 2340C (American Public Health Association (APHA), 1998). Particles were counted using image analysis with a Dynamic Particle Analyzer⁵ (DPA).

4.4.3 Low-pressure collimated beam apparatus and fluence rate measurement

Inactivation assays were conducted using a collimated beam apparatus equipped with two low-pressure monochromatic mercury lamps. UV rays were directed along a collimating tube. Fluence rate was measured with a radiometer⁶ calibrated against a NIST standard with a precision of $\pm 6.5\%$.

4.4.4 Fluence calculation

The fluence rate applied in the reactors was adjusted prior to the calculation of the necessary irradiation time for a given fluence, in agreement with the standard method proposed by Bolton and Linden (2003). Four correction factors were applied to take into consideration: (i) the non-homogeneity of the fluence rate at the surface of the reactors; (ii) the reflection of a fraction of the incident UV light at the air-water interface; (iii) the divergence of the light beams; (iv) the absorbance of the water at 253.7 nm. Absorbance was measured with a spectrophotometer⁷ equipped with an integrating sphere⁸. To allow the irradiation of large volumes of water (50 mL), Petri dishes of a diameter of 9 cm were used. With this configuration, water depth was 1 cm. Reactors were placed on stir plates and stirred gently during irradiation.

4.4.5 UV irradiation and dispersion protocol

The protocol used in this study is a modified version of the one proposed by Parker and Darby (1995) for wastewaters. The protocol presented schematically in Figure 4.1 allows the comparison of three conditions: i) non-dispersed spores (ND): raw water samples are submitted to UV irradiation without any pre-treatment, after which the samples are blended (as described later) to disperse the naturally occurring particles or aggregates prior to enumeration; ii) dispersed spores (D): samples are blended prior to UV irradiation to evaluate the role of spore aggregation and/or embedment in particles on UV inactivation; and iii) filtered spores (F8): samples are filtered through 8 µm pore membranes, after which the filtered samples are irradiated and then blended to disperse spores prior to enumeration. Dispersion is achieved by blending⁹ the water for 4 minutes at 8,000 rpm with 100 mg/L Zwittergent 3-12¹⁰. Two-minute rest intervals followed each minute of blending to minimize any increase in water temperature and the presence of foaming. Dosage results of enumeration were selected from tests using various amounts of components included in Camper's solution (Camper et al. 1985). To verify whether or not blending increases the susceptibility of spores to UV, a suspension of *Bacillus subtilis* spores (ATCC 6633) seeded in ultrapure water with

100 mg/L of Zwittergent 3-12 was formed. Results show no significant difference on the susceptibility of spores at a fluence of 20 mJ/cm² before and after blending. For the purposes of this paper, mechanical blending with 100 mg/L Zwittergent 3-12 is referred to as “blending”, unless specified otherwise.

4.4.6 Data analysis

Initial spore concentrations (N_0) were determined as the arithmetic mean of a minimum of three blended raw waters in a replicate analysis. For filtered waters, initial spore concentration was obtained from post-filtration samples.

Data from individual inactivation assays were analyzed using a parallel Chick Watson model, while a linear regression model was applied to aggregated data for each treatment (ND, D and F8). The parallel Chick-Watson model, as described by Barbeau et al. (2005), allows for the description of tailing which occurred in most samples.

$$\log_{10}(N/N_0) = \log_{10}[(1-m)10^{-k_s H} + m10^{-k_a H}] \quad (1)$$

k_s represents the rate of inactivation of single spores (cm²/mJ), k_a the rate of inactivation of aggregated or resistant spores (cm²/mJ), m the fraction of the resistant spore population or present as aggregates, and H the fluence (mJ/cm²). This model reduces to the standard Chick-Watson model for the following conditions: $m = 0$, $m = 1$ or $k_s = k_a$. Figure 4.4 provides a typical example of the application of this model to this data for three inactivation curves. The model assumes two distinct spore responses that could be the result of distinct spore populations. These two populations could represent, for example, two different fractions of the spore population exhibiting variable UV sensitivity. However, for the current project, it is hypothesized that tailing is mostly due to the protective effect of aggregates or particles, in which case the model assumes two populations: individual suspended spores versus aggregated and/or particle associated resistant. Derived kinetic parameters were tested using paired t-test on Microsoft Excel. Global models of inactivation as a function of pre-treatment for each type of water were analyzed using the general linear module of Statistica¹¹

version 7. Differences are considered statistically significant for p values > 0.05 , unless stated otherwise.

4.5. RESULTS AND DISCUSSION

4.5.1 Overview of inactivation data: Impacts of blending and filtration

Figure 4.2 presents the concentrations of particles $>8 \mu\text{m}$ and the turbidity values of the three test waters before and after blending and filtration. The St. Lawrence River water exhibited the lowest mean concentration of particles larger than $8 \mu\text{m}$ (2,583/mL) and turbidity (1.19 NTU), followed by the Mille-Îles River water (7,569/mL and 19.9 NTU). As expected, Montreal's wastewater contained the most particles and the highest turbidity (65,139 particles/mL and 57.7 NTU). Filtration decreased turbidity and particle counts, especially in the case of wastewater. Turbidity was not measured on blended waters after preliminary measurements indicated that blending had no significant effect on turbidity values. The concentration of particles $>8 \mu\text{m}$ was significantly lower after blending and filtration, although some large particles were repeatably enumerated in filtered wastewater. Detailed examination of filters did not show evidence of a breakthrough. This suggests that some particles may have formed after filtration.

Figure 4.3 presents typical inactivation curves for the three test waters. The data suggest that the impact of treatment on UV inactivation is source-dependent. Like the effect of filtration on particle concentration and turbidity, the role of pretreatment on UV inactivation was most obvious for wastewaters. Dispersed spores (blended prior to UV exposure) were more readily inactivated than non dispersed spores (blended after UV exposure). In terms of UV sensitivity, this ranking (filtered $>$ dispersed $>$ natural) was observed for all UV inactivation assays conducted. The spread between results obtained with blending and filtration on $8 \mu\text{m}$ increased as the test water quality decreased. As UV absorbance is accounted for in fluence calculations, these differences are most likely caused by particle interference or organism aggregation.

Differences with respect to tailing trends were also observed from one test water to another (Fig. 4.3). Early tailing was always noted for wastewaters and poorer quality surface waters (Fig. 4.3, bottom and middle). Conversely, no tailing was observed in St. Lawrence River water (Fig. 4.3, top). However, this observation is valid within the limitations inherent to the lower concentrations of aerobic spore-forming bacteria in that source, which restricted the observable range of log inactivation to about 2 log (Table 4.2). When tailing was present, blending or filtration could eliminate or reduce its importance, and, in turn, increase the maximum log of inactivation observed. For example, Figure 4.3 indicates a minor gain of <1.0 log for the Mille-Îles River water following blending and >1.0 log following filtration for that date.

4.5.2 Influence of pretreatment on UV inactivation kinetics - Overview of inactivation kinetics parameters

The effect of pretreatment can be assessed by comparing the values of the parameters derived from the parallel Chick-Watson model (Table 4.3). Fig. 4.4 presents a set of typical inactivation curves illustrating values obtained for k_s , k_a and m on a specific date. In general, the parallel CW model adequately described the inactivation curves. Coefficients of correlation were higher than 0.90 for 22 of the curves modeled ($N=34$). The model was especially well fitted to the Mille-Iles River data, probably due to the higher number of indigenous spores there than in the St. Lawrence water, and the lower concentration of particulates than in the wastewaters. Out of the 34 assays conducted, twenty inactivation curves did not exhibit any tailing and, therefore, the inactivation curves were modeled with a simple Chick-Watson model ($m = k_a = 0$). These were mainly ($n = 15$) assays conducted with St. Lawrence water.

Initial inactivation rates (k_s) ranged from 0.026 to 0.091 cm^2/mJ for dispersed waters (D), decreasing to 0.018 to 0.066 cm^2/mJ for non-dispersed waters (ND). Source waters were not found to influence the mean value of k_s significantly. However, they represent a two- to fourfold increase, when compared to the values published by Mamane-Gravetz and Linden (2004b) for indigenous SASFB and three wild strains of

B. subtilis spores. The spores used in their assays were purified and sporulated in laboratory conditions. The differences are probably attributable to the variations in the population of indigenous spores and their resistance to UV from one source water to another. This hypothesis is supported by past observations of Barbeau et al. (2005) indicating variations in chlorine and chlorine dioxide sensitivities for indigenous SASFB originating from different geographical regions. Another cause of difference is the use of spores produced from environmental isolates in the laboratory as opposed to environmental samples (this study) without any sporulation in the laboratory. Sporulation conditions have been shown to have a major impact on spore resistance to UV (Nicholson et al. 1999).

Blending had a statistically significant impact on the inactivation kinetics parameters, except in the case of the wastewaters. The mean rate of inactivation for suspended spores (k_s) increased significantly in the St. Lawrence water (31%) and the Mille-Iles water (30%), and by 43% ($p=0.205$) in the wastewaters. The mean rate of inactivation for aggregated spores (k_a) increased for four of the eight samples that were characterized by tailing. Increases varied from 0.000 to 0.011 cm^2/mJ . Interestingly, blending reduced the importance of aggregation as described by the reduction of the parameter m , which decreased by almost 1 log on average. However, even though blending improved UV inactivation, the initial spore concentration (N_0) was not statistically different before and after blending. Therefore, it appears that the improvement in UV inactivation are probably not the result of the breaking up of large aggregates of spores, but rather a modification in the degree of association between the indigenous spores and the particulate matter. This could result from the low numbers of spores associated with a given particle, as suggested by the relative number of spores and particles showing an approximate ratio of 1:100 (Table 4.2). In comparison, Örmeci and Linden (2005) observed an increase, ranging between 1- and 1.5-fold in total coliform counts following the blending of secondary effluent. Parker and Darby (1995) reported an increase of approximately fourfold in the total coliform counts following chemically assisted high-speed blending. The greater impact of

blending observed on coliform bacteria should be considered in light of the higher ratio of coliform bacteria to particles found in wastewaters, the potential high level of aggregation in biological flocs, and the fragile and porous nature of these flocs, as pointed out by Örmeci and Linden (2005).

The removal of large particles by filtration influenced inactivation rates more than blending did. The mean rate of inactivation for filtered spores (k_s) was increased by 53%, 68% and 24% compared to non-dispersed k_s , for the three test waters. Although these rates were significantly higher than those for non-dispersed spores, they were not significantly higher than those measured in blended waters. Filtration was more efficient than blending in preventing tailing as none of the inactivation curves exhibited any of this. Increases in the inactivation efficiency of total coliforms have been reported for wastewater when particles larger than 8-10 μm are removed by filtration. Qualls et al. (1983a) report that there is no tailing at 4 log inactivation prior to filtration on 8 μm of a secondary wastewater effluent. Qualls et al. (1985) observed an increase (0.1-2 log) of the inactivation reached before tailing occurs in secondary effluents when the samples were filtered on 10 μm . Emerick et al. (2000) measured the impact of filtration (10, 11, 20 and 40 μm) on the survival of coliform bacteria to an applied UV fluence of 100 mJ/cm^2 in secondary wastewater effluents. They report increasing survival rates with increasing filter pore size, with no survivors in the sample filtered on 10 μm . This suggests that particles larger than 10 μm protect coliform bacteria from UV in wastewaters. A limited number of assays were conducted on the Mille-Iles River water using 45 μm filtration to investigate the impact of very large particles. As illustrated in Figure 4.3 (middle), no improvement in UV disinfection was observed when particles larger than 45 μm were removed. The absence of any measurable impact probably results from the relatively small number of large particles present.

Overall, blending delayed the onset of tailing while filtration eliminated tailing as indicated by values of the parameter m (Table 4.3). These trends are in general agreement with published observations on wastewater (Jolis et al. 2001; Qualls et al.

1985). In the latter study, the authors observed an increase in the inactivation of coliform bacteria by about 1 log at the tailing point following filtration on 8 μm of secondary effluent sample, and an increase in the inactivation rate (k) from 0.102 to 0.121 cm^2/mJ when the filter effectively removed particles larger than 7 μm . These authors exclusively used inactivation data, including data from tailing to calculate the inactivation rates, unlike the parallel model used in this study.

The level of association of the target organism with the particles is a key factor in understanding the cause of observed differences in inactivation when removing or breaking up particles, as well as establishing the limitations of these observations. In the present study, m can be considered as an indicator of the aggregated fraction of the spore population. It varies from 0.0 to 9.4%, most values being under 3%. The level of association suggested by these values is significant but the potential number of organisms associated with a given particle is probably also low, given the relative ratio of SASFB per particle in the test waters. Emerick et al. (1999) used in-situ hybridization of a fluorescent (FISH) 16S ribosomal RNA oligonucleotide probe specific to *Enterobacteriaceae* to directly quantify the level of association of coliform bacteria with particles in activated sludge. Results reveal a slightly higher level of association, ranging between 3 and 24% of particles (mean diameter 11-80 μm).

Dispersion and the removal of particles larger than 8 μm prior to UV inactivation are two strategies beneficial to UV disinfection of SASFB in source water with elevated turbidity and particle. The increases in inactivation rates and the presence of tailing reported in this study are significant, and strongly suggest that particles >8 μm have a significant impact on both the presence of tailing and on the value of the inactivation rate before tailing occurs. Noteworthy is the fact that no tailing was observed in samples with turbidities lower than 10 NTU. Our results therefore support earlier findings reporting a small impact of turbidity under 10 NTU on the inactivation of seeded natural spores, MS2, *Cryptosporidium* and *Giardia* (Passantino et al. 2004; Mamane-Gravetz et al. 2004b; Craik et al. 2002).

4.5.3 Impacts of water quality characteristics on UV disinfection efficacy

To assess the impact of the inherent temporal variability of water quality in our sources, a linear model was applied using all the data, acknowledging the fact that such a model decreases the ability to finely describe tailing for a given date. However, it is useful for design purposes, as it allows for the definition of prediction intervals, which can indicate minimal inactivation dosages at 95% prediction level.

Results from the application of linear models to the combined data reveal significant differences between the slopes associated with the raw, dispersed and filtered samples of the Mille-Iles River water (0.018 ($R^2 = 0.91$), 0.025 ($R^2 = 0.95$) and 0.033 ($R^2 = 0.91$) cm^2/mJ for non-dispersed (ND), dispersed (D) and filtered (F8) samples), and Montreal wastewater (0.015 ($R^2 = 0.70$) and 0.024 ($R^2 = 0.89$) mJ/cm^2 for ND and D). Differences between treatment were not significant for the St. Lawrence high quality source water (0.034 ($R^2 = 0.83$), 0.035 ($R^2 = 0.80$) and 0.040 ($R^2 = 0.85$) cm^2/mJ for ND, D and F8). This lack of significant difference suggests that the degree of aggregation in this higher-quality source water is not sufficient to influence the inactivation kinetics. Therefore, based on the data presented, filtration of this source water would not bring about a significant change in the inactivation of the SASFB for a given dose. For the second surface water (Mille-Iles River) for which tailing was observed in all untreated samples, the combined overall rate of inactivation varied significantly, from 0.018 cm^2/mJ for ND to 0.033 cm^2/mJ for F8, showing the beneficial impact of dispersion and filtration on inactivation rates.

Of greater relevance is the variability of the inactivations observed, and the impact of this variability on the value of fluence corresponding to an upper prediction interval for a given inactivation level. Data from the individual inactivation curves for a given date show limited spread but greater variability is observed between dates. This variability may be related to the changes of water quality and/or of the resistance profile of the indigenous SASFB population. The fluence value for a 1 log inactivation increases from a mean fluence of 27.2 mJ/cm^2 to an upper bound fluence value of 40.0 mJ/cm^2 for St. Lawrence River water. The fluence value in the Mille-Iles River water

increases from the mean value of 38.6 mJ/cm^2 to an upper bound of 78.8 mJ/cm^2 . Figure 4.5 summarizes the variability of measured inactivation for a fluence of 40 mJ/cm^2 . Trends in the mean inactivation suggest that the dispersion by blending and the removal of large particles by filtration increase the inactivation levels. Secondly, the variability in the level of inactivation showed by the range of 95% prediction interval increases as the source water quality decreases.

The observed effects of blending and filtration on the inactivation SASFB cannot be directly transferred to the prediction of inactivation of *Cryptosporidium*. As shown on Figure 4.6, the large differences in sensitivity to UV suggest that the differences due to the presence of particles in fluence for a given level of inactivation would be much narrower. Given the similarity in size, and considering that a more than 3 log inactivation of *Cryptosporidium* would likely be achieved for 1 log of indigenous spores, it appears that existing safety factors in fluence prescriptions may be more than sufficient to account for the impact of particles in waters with turbidity of less than 10 NTU.

4.6 CONCLUSIONS

Two source waters and a wastewater were investigated to evaluate the impact of the removal of large particles ($<8\mu\text{m}$) and of dispersion of particles on the inactivation of SASFB by 254 nm ultraviolet (UV) irradiation. The parallel Chick-Watson model was adequate for describing the inactivation kinetics of SASFB. The model was useful in demonstrating the impact of blending and filtration on the kinetics parameters of inactivation and defining the onset of tailing. Both pre-treatments studied, namely chemically assisted mechanical dispersion by blending and filtration, proved efficient in significantly reducing the inactivation rates of both single spores (k_s) and aggregated or resistant spores (k_a). Both pre-treatments also reduced the degree of tailing (m), although filtration on $8 \mu\text{m}$ was more effective as it completely removed tailing for all samples. No tailing was observed for higher quality, lower turbidity source water, while it was observed for the lower quality, higher turbidity sources.

When results from various dates are combined into a linear model, the pretreatments were not found to improve UV efficiency significantly for the high-quality water (St. Lawrence), but did improve it for the wastewater and the lower quality surface water (Mille-Îles River). Prediction intervals show significant variability in the fluence required to ensure 95% inactivation for a given inactivation level.

Our results suggest that the presence of turbidity and particles in high-quality source water does not have a significant impact on the UV disinfection of SASFB. The results also show a significant level of inactivation before tailing for source waters of turbidity ranging from 11 to 36 UTN (Mille-Iles River). These findings support the current practice of granting primary disinfection credits for unfiltered, protected high-quality sources using UV disinfection. It also suggests the possibility of expanding this approach to unprotected low turbidity water. Moreover, it brings up the question of the need for the level of adjustment of fluence in water with elevated turbidity.

It would be of interest to evaluate whether or not the intense mixing occurring during the low-lift pumping that occurs in most WTPs does, in fact, promote dispersion and increase UV disinfection efficacy. Finally, SASFB are a useful indicator for assessing the impact of aggregation, which could impair disinfection performance for source water. Being indigenous, their use allows for the evaluation in source water of the effect of natural particle-shielding, under conditions most representative of natural particulate loadings, which cannot be evaluated with seeded organisms or synthetic particles.

4.7 ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to thank the staff of the Régie Intermunicipale Des Moulins municipal WTP, the Charles DesBaillets WTP and the Communauté urbaine de Montréal wastewater treatment plant, who supplied the water samples. They would also like to acknowledge the contribution of Jacinthe Mailly of the NSERC Chair on Drinking in the laboratory and that of Dr. Bernard Clément for their support in statistics. The National Research Council of Canada – Institut Armand-Frappier

provided the UV apparatus and various equipment. The project was funded by the NSERC Industrial Chair on Drinking Water, whose partners are the City of Montreal, Ville Laval and John Meunier Inc.

4.8 REFERENCES

American Public Health Association (APHA), (1998) .Standard methods for the examination of water and wastewater (20th Edition). 1220. Washington, DC, USA, American Water Works Association and the Water Environment Federation. Method 2130 B. (Turbidity-Nephelometric Method).

Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., Prévost, M., and Duchesne, D. (1997) A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 43 976-980.

Barbeau, B., Huffman, D., Mysore, C., Desjardins, R., Clément, B., and Prévost, M. (2005) Examination of discrete and confounding effects of water quality parameters during the inactivation of MS2 phages and *Bacillus subtilis* spores with chlorine dioxide. *Journal of Environmental Engineering and Science* 4 (2), 139-151.

Batch, L.F., Schulz, C.R., and Linden, K.G. (2004) Evaluating water quality effects on UV disinfection of MS2 coliphage. *Journal of the American Water Works Association* 96 (7), 75-87.

Bolton, J.R. and Linden, K.G. (2003) Standardization of methods for fluence (UV Dose) determination in bench-scale UV experiments. *Journal of Environmental Engineering* 129 (3), 209-215.

Camper, A.K., LeChevallier, M.W., Broadaway, S.C., and McFeters, G.A. (1985) Evaluation of procedures to desorb bacteria from granular activated carbon. *Journal of Microbiological Methods* 3 (3-4), 187-198.

Cantwell, R., Andrews, & Hofmann, (2005a) UV disinfection of indigenous coliforms and aerobic spores in unfiltered surface water . Quebec City, Quebec, Canada, American Water Works Association-Water Quality Technology Conference.

Cantwell, R. et al, (2005b). Evaluating the survival of particle-associated coliforms during UV disinfection at four drinking water treatment facilities. Whistler, British Columbia, Canada, 3rd International Congress on Ultraviolet Technologies (IUVA).

Chang, J.C.H., Ossoff, S.F., Lobe, D.C., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Qualls, R.G., and Johnson, J.D. (1985) UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 49 (6), 1361-1365.

Chevrefils, G., Caron, É., Wright, H., Sakamoto, G., Payment, P., Barbeau, B., and Cairns, B. (2006) UV dose required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa and viruses. *IUVA News* 8 (1), 38-45.

Clancy, J.L., Hargy, T.M., Marshall, M.M., and Dyksen, J.E. (1998) UV light inactivation of *Cryptosporidium* oocysts. *Journal of the American Water Works Association* 90 (9), 92-102.

Craik, S.A. et al, (2002) The impact of turbidity on *Cryptosporidium* and *Giardia* inactivation by ultraviolet light. Seattle, Washington, USA, American Water Work Association-Water Quality Technology Conference.

Emerick, R.W. & Darby, 1993. Ultraviolet light disinfection of secondary effluents: predicting performance based on water quality parameters. Whippany, New Jersey, USA , Planning, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems. Specialty Conference Series.

Emerick, R.W., Loge, F.J., Ginn, T., and Darby, J.L. (2000) Modeling the inactivation of particle-associated coliform bacteria. *Water Environmental Research* 72 (4), 432-438.

Emerick, R.W., Loge, F.J., Thompson, D., and Darby, J.L. (1999) Factors influencing ultraviolet disinfection performance. Part II: Association of coliform bacteria with wastewater particles. *Water Environment Research* 71 (6), 1178-1187.

Jolis, D., Lam, C., and Pitt, P. (2001) Particle effects on ultraviolet disinfection of coliform bacteria in recycled water. *Water Environmental Research* 73 (2), 233-236.

Loge, F.J., Bourgeois, K., Emerick, R.W., and Darby, J.L. (2001) Variations in wastewater quality parameters influencing UV disinfection performance: relative impact of filtration. *Journal of Environmental Engineering* 127 (9), 832-836.

Loge, F.J., Emerick, R.W., Thompson, D.E., Nelson, D.C., and Darby, J.L. (1999) Factors influencing ultraviolet disinfection performance Part I: Light penetration to wastewater particles. *Water Environment Research* 71 (3), 377-381.

Mamane-Gravetz, H. & Linden, (2004a) Impact of particle aggregated microbes on UV disinfection. San Antonio, Texas, USA, American Water Works Association-Water Quality Technology Conference.

Mamane-Gravetz, H. and Linden, K.G. (2004b) UV disinfection of indigenous aerobic spores: implications for UV reactor validation in unfiltered waters. *Water Research* 38 (12), 2898-2906.

Nicholson, W.L. and Law, J.F. (1999) Method for purification of bacterial endospores from soils: UV resistance of natural Sonoran desert soil populations of *Bacillus* spp. with reference to *B. subtilis* strain 168. *Journal of Microbiol Methods* 35 (1), 13-21.

Nieminski, E.C., Bellamy, W.D., and Moss, L.R. (2000) Using surrogates to improve plant performance. *Journal of the American Water Works Association* 92 (3), 67-78.

Oppenheimer, J. et al, (2002) Comparing the efficiency of low and medium pressure UV light for inactivating *Giardia muris* and *Cryptosporidium parvum* in waters with low and high levels of turbidity. New Orleans, Louisiana, USA, American Water Works Association-Annual Conference.

Ormeci, B. and Linden, K.G. (2005) Comparison of physical and chemical methods for extraction of coliform from wastewater particles and flocs. *Journal of Environmental Engineering and Science* 22 (4), 459-471.

Parker, J.A. and Darby, J.L. (1995) Particle-associated coliform in secondary effluents: shielding from ultraviolet light disinfection. *Water Environmental Research* 67 (7), 1065-1075.

Passantino, L., Malley Jr., J., Knudson, M., Ward, R., and Kim, J. (2004) Effect of low turbidity and algae on UV disinfection performance. *Journal of the American Water Works Association* 96 (6), 128-137.

Passantino, L. & Malley Jr., 2001. Impacts of turbidity and algal content of unfiltered drinking water supplies on the ultraviolet disinfection process. Washington, DC, USA, American Water Works Association-Annual Conference.

Qualls, R.G., Flynn, M.P., and Johnson, J.D. (1983) The role of suspended particles in ultraviolet disinfection. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 55 (10), 1280-1285.

Qualls, R.G., Ossoff, S.F., Chang, J.C.H., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Lobe, D.C., and Johnson, J.D. (1985) Factors controlling sensitivity in ultraviolet disinfection of secondary effluents. *Journal Water Pollution Control Federation* 57 (10), 1006-1011.

Rice, E.W., Fox, K.R., Miltner, R.J., Lytle, D.A., and Johnson, C.H. (1996) Evaluating plant performance with endospores. *Journal of the American Water Works Association* 88 (9), 122-130.

Scheible, O.K. (1987) Development of a rationally based design protocol for the ultraviolet light disinfection process. *Journal WPCF* 59 (1), 25-31.

Sommer, R., Cabaj, A., Sandu, T., and Lhotsky, M. (1999) Measurement of UV radiation using suspensions of microorganisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 53 (1-3), 1-6.

Sommer, R., Haider, T., Cabaj, A., Pribil, W., and Lhotsky, M. (1998) Time dose reciprocity in UV disinfection of water. *Water Science and Technology: Proceedings of the 1998 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality, Part 10 (of 10), Jun 21-26 1998* 38 (12), 145-150.

Templeton, M.R., Andrews, R.C., and Hofmann, R. (2005) Inactivation of particle-associated viral surrogates by ultraviolet light. *Water Research* 39 (15), 3487-500.

United States Environmental Protection Agency (USEPA), 2003. Ultraviolet disinfection guidance manual. Washington, DC, USA, Office of Science and Technology-Office of Water.

Wobma, P.C., Bellamy, W.D., Malley, J.P., Reckhow, D.A. 2004. UV disinfection and disinfection by-products characteristics of unfiltered water. Denver, Colorado, USA, American Water Works Association Research Foundation and City of Winnipeg.

4.9 FOOTNOTES

1. HAWG047S1, Millipore Corp., Billerica, MA.
2. 2,3,5,-Triphenyl Tetrazolium Chloride, Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ
3. DC180, Teckmar, Dohrmann, Mason, OH
4. 2100AN, Hach, Loveland, CO
5. Brightwell, Ottawa, Canada
6. IL1400A, International Light, Newbury, MA
7. Cary 100 Scan UV-Visible, Varian, Victoria, Australia
8. Labsphere, North Sutton, NH
9. Blender 7012S, Waring, Torrington, CT
10. 3-(Dodecyldimethylammonio) propanesulfonate, Sigma Chemical Co., St-Louis, MO
11. Statsoft, Tulsa, Oklahoma

4.10 TABLES

Table 4.1: Fluence for 1- and 2-log inactivation of *Bacillus subtilis* strain ATCC 6633 (from Chevretils et al. 2006)

References	Lamp type	Fluence for 1-log inactivation (mJ/cm ²)	Fluence for 2-log inactivation (mJ/cm ²)
Chang et al., 1985	N/A	36	49
Mamane-Gravetz & Linden, 2004b	Monochromatic	24	35
Sommer et al., 1998	Monochromatic	22	38
Sommer et al., 1999	Monochromatic	20	39

Table 4.2: Summary of water quality parameters and SASFB spore concentrations for all samples
(N/A: not available)

	Spore count CFU/100 mL	Particles >8µm #/mL	Turbidity NTU	Transmittance@254nm %	TOC mg C/L	DOC mg C/L	pH	Hardness mg CaCO ₃ /L	Alkalinity mg CaCO ₃ /L
St-Lawrence River									
11/22/2005	2.0E+02	1.2E+03	1.47	89.4	2.34	2.31	7.8	120	85
12/19/2005	8.0E+01	3.2E+03	1.04	90.0	2.20	2.18	7.6	120	82
1/13/2006	7.0E+01	7.0E+03	0.75	94.4	2.33	2.33	7.8	120	85
1/18/2006	4.6E+02	7.1E+02	1.40	92.4	2.24	2.22	7.6	118	81
1/20/2006	3.9E+02	8.1E+02	1.31	87.9	2.19	2.17	7.8	120	84
Mille-lles River									
10/17/2005	2.3E+04	7.4E+03	36.2	39.9	6.19	6.05	N/A	100	80
10/18/2005	8.0E+03	5.1E+03	16.7	52.7	6.08	6.05	N/A	94	88
11/16/2005	5.1E+03	N/A	14.2	53.4	5.98	5.91	7.3	92	63
1/24/2006	3.0E+03	5.1E+03	11.1	53.8	5.95	5.82	7.0	64	46
4/12/2006	3.7E+03	1.1E+04	28.0	52.9	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
4/18/2006	1.8E+03	9.5E+03	13.1	54.8	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Montreal wastewater									
11/29/2005	6.2E+04	3.7E+04	43.0	49.4	13.1	6.45	7.3	248	161
12/5/2005	2.5E+04	8.8E+04	77.0	38.3	31.5	11.1	7.1	232	189

Table 4.3: Inactivation kinetics parameters using the parallel Chick-Watson equation model for SASFB spore inactivation using ultraviolet light
(D: blended before UV irradiation. ND: blended after irradiation. F8: filtered on 8-m membranes. N/A: not available)

	ks (cm ² /mJ)			ka (cm ² /mJ)			m			R ²		
	ND	D	F8	ND	D	F8	ND	D	F8	ND	D	F8
St-Lawrence River												
22-11-2005	0.033	0.043	0.045	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.72	0.90	0.59
19-12-2005	0.019	0.026	0.047	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.25	0.80	0.76
13-01-2006	0.029	0.048	0.052	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.71	0.90	0.94
18-01-2006	0.050	0.056	0.061	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.99	0.83	0.99
20-01-2006	0.030	0.037	0.039	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.86	0.79	0.78
Mille-lles River												
17-10-2005	0.038	0.041	N/A	0.000	0.000	N/A	0.006	0.001	N/A	0.91	0.99	N/A
18-10-2005	0.066	0.075	N/A	0.009	0.018	N/A	0.049	0.033	N/A	0.94	0.98	N/A
16-11-2005	0.020	0.046	N/A	0.000	0.008	N/A	0.094	0.023	N/A	0.99	0.99	N/A
24-01-2006	0.032	0.037	N/A	0.000	0.000	N/A	0.009	0.002	N/A	0.93	0.94	N/A
12-04-2006	0.031	0.039	0.066	0.001	0.000	-	0.010	0.001	0.000	0.98	0.99	0.99
18-04-2006	0.018	0.029	0.068	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.80	0.93	0.99
Montreal wastewater												
29-11-2005	0.063	0.091	N/A	0.001	0.009	N/A	0.022	0.019	N/A	0.69	0.96	N/A
05-12-2005	0.034	0.048	0.042	0.000	0.008	-	0.013	0.016	0.000	0.96	0.99	0.91

4.11 FIGURES

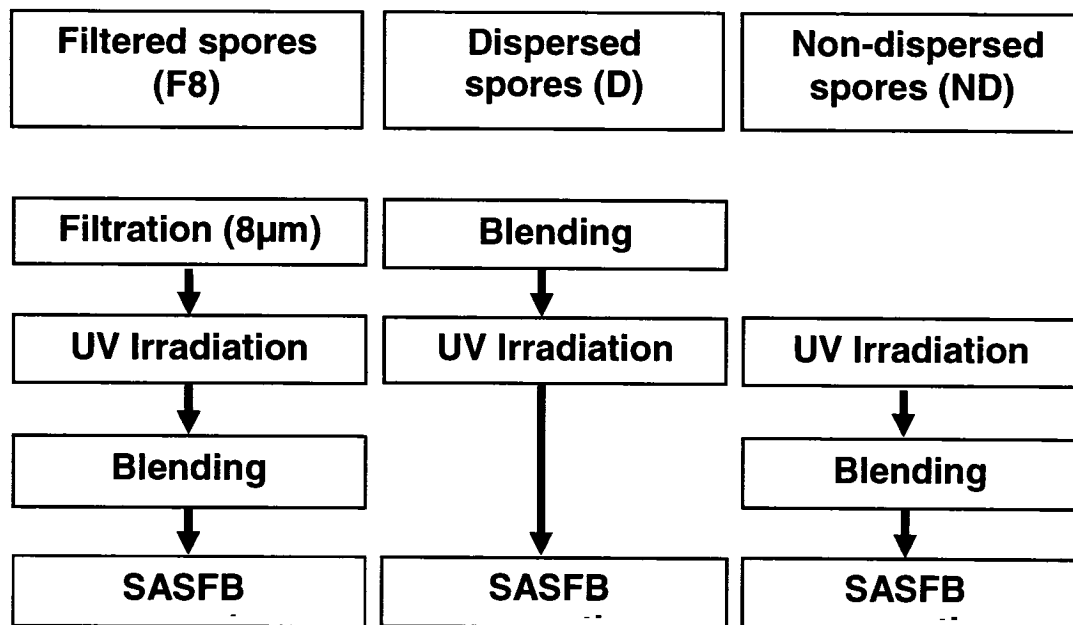


Figure 4.1: Dispersion, filtration and UV irradiation protocol for three types of spores: filtered, dispersed and non-dispersed

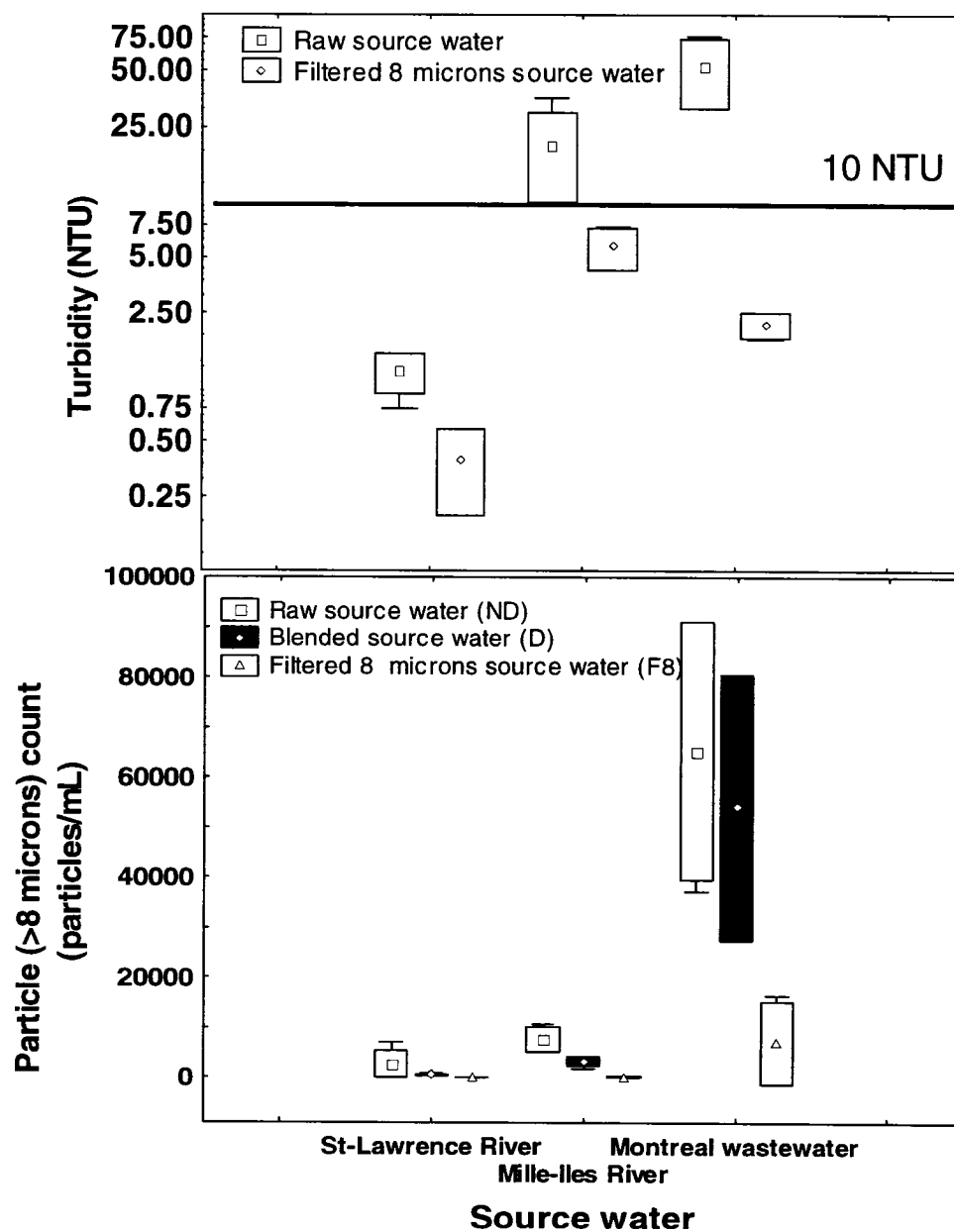


Figure 4.2: Effect of pre-treatments on turbidity (top) and particle concentration (>8 μm) (bottom).

Box: mean $\pm$ standard deviation. Whisker: non-outlier range

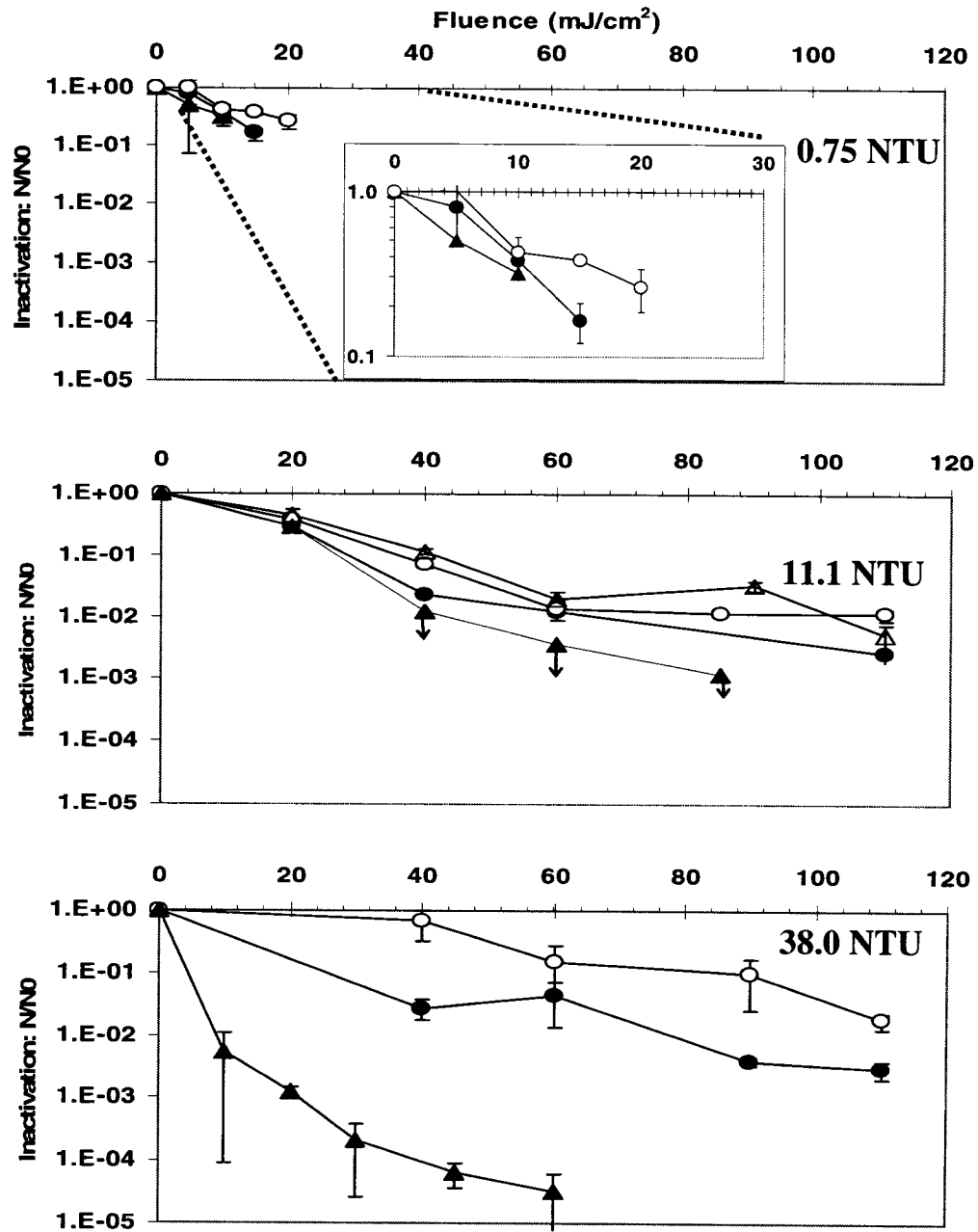


Figure 4.3: Examples of inactivation curves: Top: St. Lawrence River water (January 13, 2006); Middle: Mille-Îles River water (January 24, 2006); Bottom: City of Montreal wastewater (December 12, 2005).
 (○: non-dispersed, ●: dispersed, ▲: filtered on 8 µm, △: filtered on 45 µm, ↓: No survival)

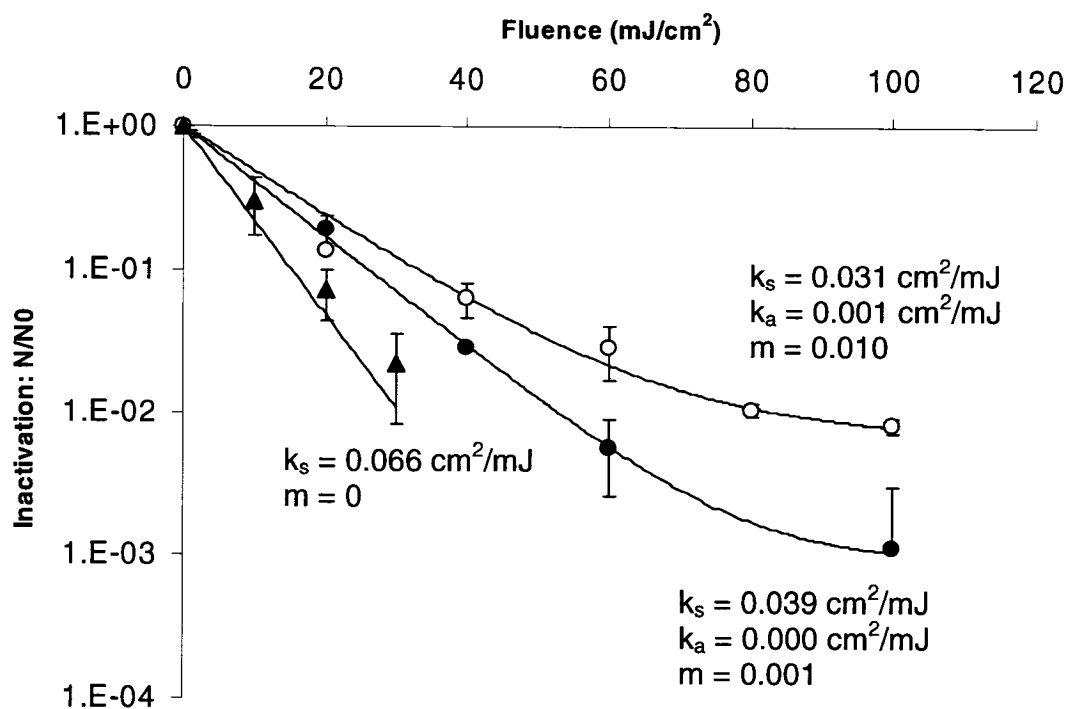


Figure 4.4: Inactivation data from sample collected from the Mille-Iles River on April 12, 2006

(○: non-dispersed, ●: dispersed, ▲: filtered on $8 \mu\text{m}$)

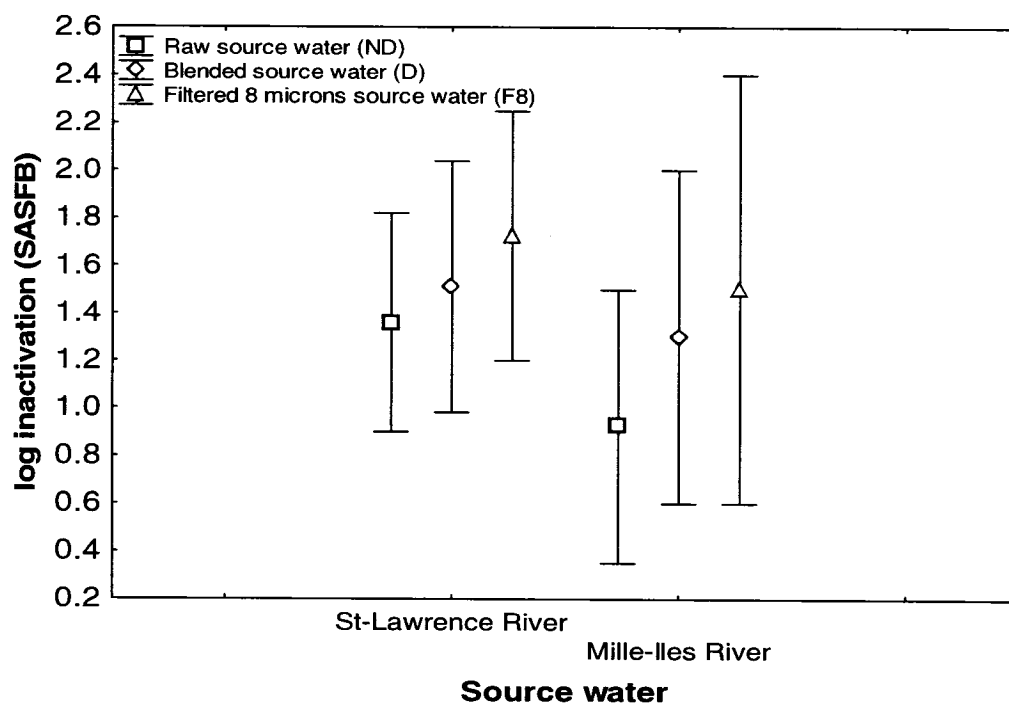


Figure 4.5: Inactivation of indigenous spores of spore-forming aerobic bacteria for a fluence of 40 mJ/cm²
Whisker: 95% prediction interval.

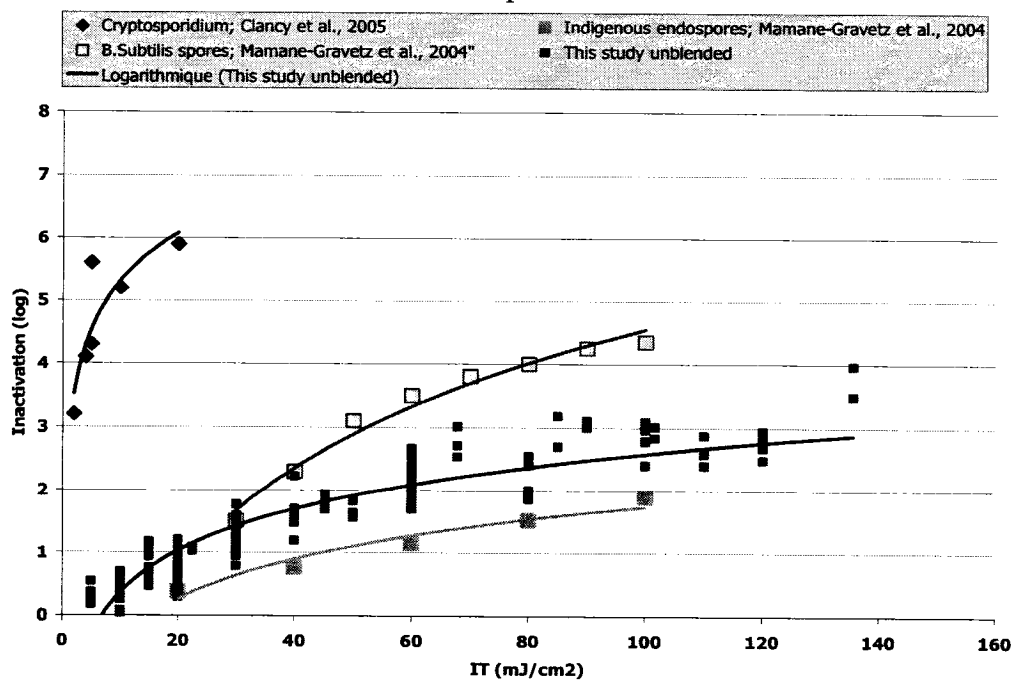


Figure 4.6 : Inactivation of spores and *Cryptosporidium*

Chapitre 5 : DISCUSSION ET CONCLUSION GÉNÉRALE

5.1 Discussion générale

Le présent projet de recherche est divisé en deux principales parties que sont les chapitres 3 et 4. Le chapitre 3 présente une comparaison de trois modèles issus de la littérature pour décrire des résultats d'inactivation de spores de bactéries sporulantes aérobies indigènes à deux eaux de surface (fleuve St-Laurent et rivière Des Mille-Îles) et à une eau usée (Ville de Montréal). Le chapitre 4 présente l'impact des particules et agrégats microbiens naturels sur les cinétiques de désinfection UV a été étudié à l'aide d'un modèle issu de la littérature.

Plusieurs autres modèles, présentés au chapitre 2, existent dans la littérature pour décrire des résultats d'inactivation ne suivant pas une cinétique log-linéaire classique. Toutefois, certains modèles exigent un travail préalable aux essais d'inactivation UV qui alourdit grandement la tâche, particulièrement lorsque les essais doivent être réalisés à de multiples reprises, comme c'est souvent le cas lors de travaux de recherche.

Les modèles évalués dans la présente recherche se sont tous avérés appropriés pour décrire les résultats obtenus expérimentalement. Toutefois, ceux-ci ne sont pas tous égaux du point de vue de la simplicité et de l'interprétation des paramètres car ils reposent sur des hypothèses différentes. Le modèle de Gehr et Wright est empirique et, bien que l'on puisse conclure sur le niveau de plafonnement d'inactivation à partir d'un des trois paramètres, il est difficile à utiliser pour étudier les cinétiques de désinfection. Le modèle de Scheible est celui adopté par l'USEPA pour décrire l'inactivation de bactéries coliformes en eaux usées. Il est approprié pour modéliser les résultats obtenus mais repose sur une hypothèse non-fondée, particulièrement dans le cas des spores de BSA. En effet, l'hypothèse du modèle de Scheible voulant que les organismes étant responsables du plafonnement d'inactivation soient impossibles à

inactiver n'a pas été démontrée et demeure une grossière simplification puisque le plafonnement s'exerce le plus souvent comme une diminution importante du taux d'inactivation, ce dernier diminuant rarement jusqu'à zéro. Le troisième modèle utilisé, celui de Mamane-Gravetz et Linden, prend en compte cette diminution du taux d'inactivation et divise la courbe d'inaction en deux parties ayant des pentes différentes. Il permet aussi, par le biais d'un paramètre, de quantifier le plafonnement. Ainsi, ce modèle permet de mesurer des variations dans le plafonnement, ainsi que dans les taux d'inactivation. Un modèle très semblable a d'ailleurs été utilisé dans le chapitre 4, pour étudier les effets de la matière particulaire sur la désinfection UV.

Dans ce chapitre, un protocole d'irradiation UV a été élaboré. Des étapes de dispersion par malaxage et de filtration sur membrane de porosité de 8 μm ont été intégrées. La dispersion avait comme but de partitionner les agrégats microbiens et de séparer les spores pouvant être agrégées naturellement à des particules. La filtration sur 8 μm a été introduite dans le but d'enlever les particules susceptibles de protéger les spores, qui sont légèrement plus petites (1-2 μm). De plus, étant donné la similitude au niveau de la taille et de la forme, les spores sont considérées comme un indicateur conservateur par rapport aux oocystes de *Cryptosporidium* (4-5 μm), parasites d'intérêt pour la désinfection UV.

Les résultats d'inactivation ont tout d'abord été modélisés, chaque échantillon pris individuellement. Les échantillons provenant du fleuve St-Laurent, d'excellente qualité, n'ont pas démontré de plafonnement durant les essais. Toutefois, la grande majorité des échantillons provenant de la rivière Des Mille-Îles, qui est sous influence d'eaux usées, et ceux d'eaux usées ont démontré un plafonnement d'inactivation. Les essais ont permis de démontrer que la dispersion par malaxage en présence d'un surfactant, réalisée préalablement à l'irradiation UV, a comme effet de d'augmenter le taux d'inactivation de spores, et de diminuer le degré de plafonnement d'inactivation pour la majorité des échantillons. Ceci s'explique par le bris de particules et d'agrégats

protégeant les spores, les rendant ainsi plus susceptibles aux UV. La filtration sur 8 µm a éliminé le plafonnement d'inactivation pour tous les échantillons qui en présentaient, confirmant ainsi le lien entre la présence de grosses particules et la présence d'un plafonnement d'inactivation. Cette dernière constatation est intéressante puisque la filtration n'abaissait pas toujours la turbidité à des niveaux très bas, ce qui pourrait remettre en question les critères très sévères pour l'exemption d'un procédé de filtration. Cela étant dit, tous les échantillons présentant une turbidité inférieure à 10 UTN, soit naturellement ou suite à la filtration, ne présentaient pas de plafonnement d'inactivation.

En combinant les résultats de divers échantillons provenant d'une même source d'eau dans une modélisation linéaire, il fut possible de constater que les prétraitements (filtration et dispersion) n'ont pas un effet statistiquement significatif sur l'eau de bonne qualité (fleuve St-Laurent) mais qu'ils en ont un sur les deux autres eaux. Ces résultats démontrent que la présence de particules causant la turbidité dans des eaux de haute qualité n'a pas un effet important sur la désinfection UV. Aussi, les résultats de la rivière Des Mille-Îles démontrent que des eaux ayant ces niveaux de turbidité (11-36 UTN) peuvent présenter un plafonnement d'inactivation mais que le niveau d'inactivation atteint avant le plafonnement reste important (1,5 à 3 log).

Bien qu'on ne peut mettre en relation directe l'atteinte d'inactivation de *Cryptosporidium* et celle de spores de BSA, on peut penser qu'étant donnée leur taille similaire et la grande susceptibilité de *Cryptosporidium* aux UV, qu'un minimum de 3 log d'inactivation serait atteint lorsque 1 log d'inactivation de spores de BSA est mesuré. Les résultats obtenus renforcent donc la pratique actuelle de donner un crédit d'inactivation de *Cryptosporidium* pour un procédé de désinfection UV sans filtration préalable et suggèrent la possibilité de procéder de façon semblable pour des eaux non-protégées de bonne qualité.

5.2 Conclusion générale

Le but de cette étude consistait, dans un premier lieu, à vérifier si des modèles existants, provenant de la littérature scientifique, sont adéquats pour la description de l'inactivation d'organismes indigènes en eaux naturelles et, dans un deuxième lieu, à étudier l'effet de l'agrégation sur l'efficacité de la désinfection UV. Pour ce faire, deux phases ont été définies : (1) comparer des modèles existants selon trois critères prédéfinis et (2) décrire les effets de la dispersion par malaxage et de la filtration sur 8 μm sur la cinétique d'inactivation modélisée. Les travaux réalisés ont permis de dégager les conclusions suivantes relativement à l'utilisation d'un modèle pour observer les changements de cinétiques d'inactivation UV :

- La simplicité au niveau de la représentation mathématique d'un modèle est un atout puisqu'elle permet plus facilement de converger vers une solution appropriée, même lorsqu'une variabilité est présente dans les résultats.
- Les paramètres cinétiques d'un modèle doivent se baser le plus possible sur la réalité, en évitant les simplifications théoriques, puisque celles-ci compliquent l'analyse des variations de ces paramètres.

Les conclusions suivantes ont été tirées suite à l'application du modèle aux résultats obtenus suite à l'application du protocole d'irradiation intégrant des étapes de dispersion par malaxage et de filtration :

- Les spores de BSA sont un indicateur approprié pour mesurer l'agrégation naturelle présente dans l'eau et les effets de celle-ci sur l'efficacité de la désinfection UV.
- L'agrégation naturelle présente dans l'eau diminue le taux d'inactivation UV des spores de BSA et cause un plafonnement de l'inactivation, particulièrement en présence de turbidité élevée (>10 UTN).
- La dispersion par malaxage en présence d'un surfactant a comme effet de réduire l'impact négatif de l'agrégation sur la désinfection UV.

- La filtration sur 8 μm permet d'enlever complètement la présence d'un plafonnement d'inactivation, ce qui confirme le source de celui-ci comme étant les grosses particules et/ou la présence de gros agrégats microbiens
- Même dans une eau de mauvaise qualité, il est possible d'atteindre un minimum d'un log d'inactivation de spores de BSA, sans plafonnement, ce qui pourrait représenter une forte inactivation de *Cryptosporidium*.

Ainsi, l'utilisation d'un protocole d'irradiation UV intégrant la filtration sur 8 μm et la dispersion par malaxage a permis d'approfondir la connaissance acquise au niveau de l'interaction particules-spores et ses conséquences sur la désinfection UV d'eaux non-filtrées. Il serait certainement intéressant de vérifier si le pompage présent dans la majorité des stations d'eau potable aurait un effet similaire au malaxage, permettant ainsi d'augmenter le taux d'inactivation UV des microorganismes. Aussi, plus de recherche sur le niveau d'agrégation de *Cryptosporidium* en eaux naturelles est nécessaire pour vérifier l'étendue de la protection contre les UV conférée à ce parasite par la présence de particules.

RÉFÉRENCES

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater (20th Edition). Anon. 1220. Washington, DC, USA :

AMOS, S.A., DAVEY, K.R., THOMAS, C.J. 2001. A comparison of predictive models for the combined effect of UV dose and solids concentration on disinfection kinetics of *Escherichia coli* for potable water production. *Process Safety and Environmental Protection: Transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part B*. 79 : 3. 174-182.

BARBEAU, B., BOULOS, L., DESJARDINS, R., COALLIER, J., PRÉVOST, M. 1999. Examining the use of aerobic spore-forming bacteria to assess the efficiency of chlorination. *Water Research*. 33 : 13. 2941-2948.

BARBEAU, B., BOULOS, L., DESJARDINS, R., COALLIER, J., PRÉVOST, M., DUCHESNE, D. 1997. A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 43 : 976-980.

BARBEAU, B., HUFFMAN, D., MYSORE, C., DESJARDINS, R., CLÉMENT, B., PRÉVOST, M. 2005. Examination of discrete and confounding effects of water quality parameters during the inactivation of MS2 phages and *Bacillus subtilis* spores with chlorine dioxide. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 4 : 2. 139-151.

BATCH, L.F., SCHULZ, C.R., LINDEN, K.G. 2004 . Evaluating water quality effects on UV disinfection of MS2 coliphage. *Journal of the American Water Works Association*. 96 : 7. 75-87.

BELOSEVIC, M., CRAIK, S.A., STAFFORD, J.L., NEUMANN, N.F., KRUTHOF, J., SMITH, D.W. 2001. Studies on the resistance/reactivation of *Giardia muris* cysts and *Cryptosporidium parvum* oocysts exposed to medium-pressure ultraviolet radiation. *FEMS Microbiology Letters*. 204 : 1. 197-203.

BOLTON, J.R., LINDEN, K.G. 2003. Standardization of methods for fluence (UV Dose) determination in bench-scale UV experiments. *Journal of Environmental Engineering*. 129 : 3. 209-215.

BUKHARI, Z., ABRAMS, F., LECHEVALLIER, M. 2004. Using ultraviolet light for disinfection of finished water. *Water Science and Technology*. 50 : 1. 173-178.

BUKHARI, Z., HARGY, T.M., BOLTON, J.R., DUSSERT, B., CLANCY, J.L. 1999. Medium-pressure UV for oocyst inactivation. *Journal of the American Water Works Association*. 91 : 3. 86-94.

CABAJ, A., SOMMER, R. 2000. Measurement of ultraviolet radiation with biological dosimeters. *Radiation Protection Dosimetry*. 91 : 1-3. 139-142.

CAIRNS, W.L., SAKAMOTO, G., COMAIR, C.B., GEHR, R. 1993. Assessing UV disinfection of a physico-chemical effluent by medium pressure lamps using a collimated beam and pilot plant Whippany, NJ, USA: Water Environment Federation Specialty Conference: Planning, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems. 433-444 p.

CAMPBELL, A.T., ROBERTSON, L.J., SNOWBALL, M.R., SMITH, H.V. 1995. Inactivation of oocysts of *Cryptosporidium parvum* by ultraviolet irradiation. *Water Research*. 29 : 11. 2583-2586.

CAMPER, A.K., LECHEVALLIER, M.W., BROADAWAY, S.C., MCFETERS, G.A. 1985. Evaluation of procedures to desorb bacteria from granular activated carbon. *Journal of Microbiological Methods*. 3 : 3-4. 187-198.

CANTWELL, R., ANDREWS, R.C., HOFMANN, R. 2005a. "UV disinfection of indigenous coliforms and aerobic spores in unfiltered surface water". Quebec City, Quebec, Canada : American Water Works Association-Water Quality Technology Conference.

CANTWELL, R., QUINN, C., TEMPLETON, M., HOFMANN, R., ANDREWS, R.C. 2005b. "Evaluating the survival of particle-associated coliforms during UV disinfection at four drinking water treatment facilities". Whistler, British Columbia, Canada : 3rd International Congress on Ultraviolet Technologies (IUVA).

CARLSON, D.A., SEABLOOM, R.W., DEWALLE, F.B., WETZLER, T.F., ENGESET, J. 1985. Ultraviolet disinfection of water for small water supplies Cincinnati, Ohio, USA: United States Environmental Protection Agency. EPA/600/2-85.

CHANG, J.C.H., OSSOFF, S.F., LOBE, D.C., DORFMAN, M.H., DUMAIS, C.M., QUALLS, R.G. et al. 1985. UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*. 49 : 6. 1361-1365.

CHARACKLIS, G.W., DILTS, M.J., SIMMONS, O.D., LIKIRDOPULOS, C.A., KROMETIS, L.A.H., SOBSEY, M.D. 2005. Microbial partitioning to settleable particles in stormwater. *Water Research*. 39 : 9. 1773-1782.

CHEVREFILS, G., CARON, É., WRIGHT, H., SAKAMOTO, G., PAYMENT, P., BARBEAU, B. et al. 2006. UV dose required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa and viruses. *IUVA News*. 8 : 1. 38-45.

CLANCY, J.L., BUKHARI, Z., HARGY, T.M., BOLTON, J.R., DUSSERT, B.W., MARSHALL, M.M. 2000. Using UV to inactivate *Cryptosporidium*. *Journal of the American Water Works Association*. 92 : 9. 97-104.

CLANCY, J.L., HARGY, T.M., MARSHALL, M.M., DYKSEN, J.E. 1998. UV light inactivation of *Cryptosporidium* oocysts. *Journal of the American Water Works Association*. 90 : 9. 92-102.

CRAIK, S.A., AMOAH, K., SMITH, D.W., BELOSEVIC, M. 2002. "The impact of turbidity on *Cryptosporidium* and *Giardia* inactivation by ultraviolet light". Seattle, Washington, USA : American Water Work Association-Water Quality Technology Conference.

CRAIK, S.A., FINCH, G.R., BOLTON, J.R., BELOSEVIC, M. 2000. Inactivation of *Giardia muris* cysts using medium-pressure ultraviolet radiation in filtered drinking water. *Water Research*. 34 : 18. 4325-4332.

CRAIK, S.A., LEINAN, B.E., SMITH, D.W., BELOSEVIC, M. 2003. "Impact of particles on dose delivery in an ultraviolet light reactor for drinking water disinfection". Moncton, New-Brunswick, Canada : 8^e Environmental and Sustainable Engineering Specialty Conference of the Canadian Society for Engineering. P. 10.

CRAIK, S.A., WELDON, D., FINCH, G.R., BOLTON, J.R., BELOSEVIC, M. 2001. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium- and low-pressure ultraviolet radiation. *Water Research*. 35 : 6. 1387-1398.

EMERICK, R.W., DARBY, J.L. 1993. "Ultraviolet light disinfection of secondary effluents: predicting performance based on water quality parameters". Whippany, New Jersey, USA : Planning, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems. Specialty Conference Series.

EMERICK, R.W., LOGE, F.J., GINN, T., DARBY, J.L. 2000. Modeling the inactivation of particle-associated coliform bacteria. *Water Environmental Research*. 72 : 4. 432-438.

EMERICK, R.W., LOGE, F.J., THOMPSON, D., DARBY, J.L. 1999. Factors influencing ultraviolet disinfection performance. Part II: Association of coliform bacteria with wastewater particles. *Water Environment Research*. 71 : 6. 1178-1187.

FACILE, N., BARBEAU, B., PRÉVOST, M., KOUDJONOU, B. 2000. Evaluating bacterial aerobic spores as a surrogate for *Giardia* and *Cryptosporidium* inactivation by ozone. *Water Research*. 34 : 12. 3238-3246.

FAHEY, R.J., VALADE, M.T., KROLL, G.R., POTORTI, D., KEESLER, D.E., BORSYKOWSKY, M. 2004. "Low pressure over medium pressure - The New York city UV decision". Orlando, Florida, USA : American Water Works Association-Annual Conference.

GEHR, R. 2005. "Collimated beam tests: their limitation for assessing wastewater disinfectability by UV, and a proposal for an additional evaluation parameter". Whistler, British Columbia, Canada : 3rd International Congress on Ultraviolet Technologies (IUVA).

GEHR, R., WRIGHT, H. 1998. UV disinfection of wastewater coagulated with ferric chloride: recalcitrance and fouling problems. *Water Science and Technology*. 38 : 3. 15-23.

HARM, W. 1980. Biological effects of ultraviolet radiation International Union of Pure and Applied Biophysics, Biophysics Series. Cambridge University Press.

HIJNEN, W.A.M., BEERENDONK, E.F., 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.

HOYER, O. 1998. Testing performance and monitoring of UV systems for drinking water disinfection. *Water Supply*. 16 : 1-2. 424-429.

- JOLIS, D., LAM, C., PITT, P. 2001. Particle effects on ultraviolet disinfection of coliform bacteria in recycled water. *Water Environmental Research*. 73 : 2. 233-236.
- KALISVAART, B.F. 2001. Photobiological effects of polychromatic medium pressure UV lamps. *Water Science and Technology*. 43 : 4. 191-197.
- KARANIS, P., MAIER, W.A., SEITZ, H.M., SCHOENEN, D. 1992. UV sensitivity of protozoan parasites. *Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*. 41 : 2. 95-100.
- KAWAMURA, K., KANEKO, M., HIRATA, T., TAGUCHI, K. 1986. Microbial indicators for the efficiency of disinfection processes. *Water Science and Technology*. 18 : 10. 175-184.
- KNUDSON, G.B. 1985. Photoreactivation of UV-irradiated *Legionella pneumophila* and other *Legionella* species. *Applied and Environmental Microbiology*. 49 : 4. 975-980.
- KUO, J., CHEN, C.-L., NELLOR, M. 2003. Standardized collimated beam testing protocol for water/wastewater ultraviolet disinfection. *Journal of Environmental Engineering*. 129 : 8. 774-779.
- LARSON, R.A., BERENBAUM, M.R. 1988. Environmental phototoxicity: solar ultraviolet radiation affects the toxicity of natural and man-made chemicals. *Environmental Science and Technology*. 22 : 4. 354-360.
- LINDEN, K.G., SHIN, G., SOBSEY, M.D. 2001. Comparative effectiveness of UV wavelengths for the inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts in water. *Water Science and Technology*. 43 : 12. 171-174.
- LINDEN, K.G., SHIN, G.-A., FAUBERT, G., CAIRNS, W., SOBSEY, M.D. 2002. UV disinfection of *Giardia lamblia* cysts in water. *Environmental Science and Technology*. 36 : 11. 2519-2522.

LOGE, F.J., BOURGEOUS, K., EMERICK, R.W., DARBY, J.L. 2001. Variations in wastewater quality parameters influencing UV disinfection performance: relative impact of filtration. *Journal of Environmental Engineering*. 127 : 9. 832-836.

LOGE, F.J., DARBY, J.L., TCHOBANOGLOUS, G. 1996a. UV disinfection of wastewater: Probabilistic approach to design. *Journal of Environmental Engineering*. 122 : 12. 1078-1084.

LOGE, F.J., EMERICK, R.W., HEATH, M., JACANGELO, J., TCHOBANOGLOUS, G., DARBY, J.L. 1996b. Ultraviolet disinfection of secondary wastewater effluents: prediction of performance and design. *Water Environment Research*. 68 : 5. 900-916.

LOGE, F.J., EMERICK, R.W., THOMPSON, D.E., NELSON, D.C., DARBY, J.L. 1999. Factors influencing ultraviolet disinfection performance Part I: Light penetration to wastewater particles. *Water Environment Research*. 71 : 3. 377-381.

MAMANE-GRAVETZ, H., LINDEN, K.G. 2004a. "Impact of particle aggregated microbes on UV disinfection". San Antonio, Texas, USA : American Water Works Association-Water Quality Technology Conference.

MAMANE-GRAVETZ, H., LINDEN, K.G. 2004b. UV disinfection of indigenous aerobic spores: implications for UV reactor validation in unfiltered waters. *Water Research*. 38 : 12. 2898-2906.

MAMANE-GRAVETZ, H., 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.

MOFIDI, A.A., LINDEN, K.G. 2004. Disinfection effectiveness of ultraviolet (UV) light for heterotrophic bacteria leaving biologically active filters. *Journal of Journal of Water Supply: Research and Technology-Aqua*. 53 : 8. 553-566.

MORITA, S., NAMIKOSHI, A., HIRATA, T., OGUMA, K., KATAYAMA, H., OHGAKI, S. et al. 2002. Efficacy of UV irradiation in inactivating *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 : 11. 5387-5393.

NICHOLSON, W.L., LAW, J.F. 1999. Method for purification of bacterial endospores from soils: UV resistance of natural Sonoran desert soil populations of *Bacillus* spp. with reference to *B. subtilis* strain 168. *Journal of Microbiol Methods*. 35 : 1. 13-21.

NIEMINSKI, E.C., BELLAMY, W.D., MOSS, L.R. 2000. Using surrogates to improve plant performance. *Journal of the American Water Works Association*. 92 : 3. 67-78.

OGUMA, K., KATAYAMA, H., OHGAKI, S. 2002. Photoreactivation of *Escherichia coli* after low- or medium-pressure UV disinfection determined by an endonuclease sensitive site assay. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 : 12. 6029-6035.

OPPENHEIMER, J., GILLOGLY, T., STOLARIK, G., WARD, R. 2002. "Comparing the efficiency of low and medium pressure UV light for inactivating *Giardia muris* and *Cryptosporidium parvum* in waters with low and high levels of turbidity". New Orleans, Louisiana, USA : American Water Works Association-Annual Conference.

ORMECI, B., LINDEN, K.G. 2005. Comparison of physical and chemical methods for extraction of coliform from wastewater particles and flocs. *Journal of Environmental Engineering and Science*. 22 : 4. 459-471.

PARKER, J.A., DARBY, J.L. 1995. Particle-associated coliform in secondary effluents: shielding from ultraviolet light disinfection. *Water Environmental Research*. 67 : 7. 1065-1075.

PASSANTINO, L., MALLEY JR., J., KNUDSON, M., WARD, R., KIM, J. 2004. Effect of low turbidity and algae on UV disinfection performance. *Journal of the American Water Works Association*. 96 : 6. 128-137.

PASSANTINO, L., MALLEY JR., J.P. 2001. "Impacts of turbidity and algal content of unfiltered drinking water supplies on the ultraviolet disinfection process". Washington, DC, USA : American Water Works Association-Annual Conference.

PRESCOTT, L.M., HARLEY, J.P., KLEIN, D.A. 2003. Microbiologie (2^e édition française). Traduction de la 5^e édition américaine par Claire-Michelle Back-Calberg et Jean Dusart (Université de Liège). Anon. 1137. Bruxelles, Belgique : Édition De Boeck Université.

QUALLS, R.G., FLYNN, M.P., JOHNSON, J.D. 1983a. The role of suspended particles in ultraviolet disinfection. *Journal of the Water Pollution Control Federation* . 55 : 10. 1280-1285.

QUALLS, R.G., JOHNSON J.D. 1983b. Bioassay and dose measurement in UV disinfection. *Applied and Environmental Microbiology*. 45 : 3. 872-877.

QUALLS, R.G., OSSOFF, S.F., CHANG, J.C.H., DORFMAN, M.H., DUMAIS, C.M., LOBE, D.C. et al. 1985. Factors controlling sensitivity in ultraviolet disinfection of secondary effluents. *Journal Water Pollution Control Federation*. 57 : 10. 1006-1011.

RANSOME, M.E., WHITMORE, T.N., CARRINGTON, E.G. 1993. Effect of disinfectants on the viability of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Water Supply*. 11 : 1. 103-117.

RICE, E.W., FOX, K.R., MILTNER, R.J., LYTLE, D.A., JOHNSON, C.H. 1996. Evaluating plant performance with endospores. *Journal of the American Water Works Association*. 88 : 9. 122-130.

RICE, E.W., HOFF, J.C. 1981. Inactivation of *Giardia lamblia* cysts by ultraviolet irradiation. *Applied and Environmental Microbiology*. 42 : 3. 546-547.

SCHEIBLE, O.K. 1987. Development of a rationally based design protocol for the ultraviolet light disinfection process. *Journal WPCF*. 59 : 1. 25-31.

SCHEIBLE, O.K., CASEY, M., FORNDRAN, A. 1986. Ultraviolet disinfection of wastewaters from secondary effluent and combined sewer overflows Cincinnati, Ohio, USA: United States Environmental Protection Agency (USEPA). EPA/600/S2-86/005.

SEVERIN, B.F., SUIDAN, M.T., ENGELBRECHT, R.S. 1983. Kinetic Modeling of U.V. Disinfection of Water. *Water Research*. 17 : 11. 1669-1678.

SHIN, G.-A., LINDEN, K.G., ARROWOOD, M.J., SOBSEY, M.D. 2001. Low-pressure UV inactivation and DNA repair potential of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology*. 67 : 7. 3029-3032.

SMITH, K.C. 1969. Biochemical effects of ultraviolet light on DNA. Anon. *The biologic effects of ultraviolet radiation*. 47-56. F. Urbach, edition, Pergamon Press, Oxford.

SOMMER, R., CABAJ, A., SANDU, T., LHOTSKY, M. 1999. Measurement of UV radiation using suspensions of microorganisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 53 : 1-3. 1-6.

SOMMER, R., HAIDER, T., CABAJ, A., PRIBIL, W., LHOTSKY, M. 1998. Time dose reciprocity in UV disinfection of water. *Water Science and Technology: Proceedings of the 1998 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality, Part 10 (of 10), Jun 21-26 1998*. 38 : 12 . 145-150.

TEMPLETON, M.R., ANDREWS, R.C., HOFMANN, R. 2005. Inactivation of particle-associated viral surrogates by ultraviolet light. *Water Research*. 39 : 15. 3487-500.

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA). 2003. *Ultraviolet disinfection guidance manual*. Washington, DC, USA: Office of Science and Technology-Office of Water. EPA815-D-03-007 (draft).

WOBMA, P.C., BELLAMY, W.D., MALLEY, J.P., RECKHOW, D.A. 2004. UV disinfection and disinfection by-products characteristics of unfiltered water Denver, Colorado, USA: American Water Works Association Research Foundation and City of Winnipeg. 151 p. 91039.

ZIMMER, J.L., 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. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 : 7. 3293-3299.

ZIMMER, J.L., SLAWSON, R.M., HUCK, P.M. 2003 . Inactivation and potential repair of *Cryptosporidium parvum* following low- and medium-pressure ultraviolet irradiation. *Water Research*. 37 : 14. 3517-3523.

ANNEXE A : EXEMPLE DE CALCULS DE FLUENCE

Fluence (mW/cm^2) = E_0 (Taux de fluence à l'interface air-eau) * Facteur de Petri *
Facteur de réflexion * Facteur d'absorbance * Facteur de divergence * t (en sec.)

Facteur de Petri : 0.98 tel que déterminé par Louise-Michelle Verrier (voir Annexe III)

Facteur de réflexion : 0.975 ($R=0.025$ d'après la loi de Frensel (Meyer-Arendt, 1984))

$$\text{Facteur de divergence : } = \frac{L^2}{(L+x)^2} = \frac{90^2}{(90+1)^2} = 0.99$$

où L : distance entre la lampe et l'eau

x : distance à parcourir dans le liquide

$$\text{Facteur d'absorbance} = \frac{1 - 10^{-al}}{al \ln(10)} \text{ avec } l = 1 \text{ cm, si absorbance de l'eau } a = 0.27 \text{ cm}^{-1}$$

Facteur d'absorbance = 0.62

La valeur du taux de fluence à l'interface air-eau (E_0) utilisée est $0.046 \text{ mW}/\text{cm}^2$

Donc :

Pour une fluence voulue de $50 \text{ mJ}/\text{cm}^2$

$$t \text{ (en sec.)} = \frac{50}{0.046 * 0.98 * 0.975 * 0.99 * 0.62}$$

$$= 1853 \text{ secondes d'exposition ou } 30 \text{ min. } 53 \text{ sec.}$$

ANNEXE B : CALCUL DU FACTEUR DE PETRI

Tube #1								
cm	-4	-3	-2	-1	1	2	3	4
-4			0,047	0,046	0,047	0,044		
-3		0,046	0,049	0,048	0,049	0,046	0,046	
-2	0,046	0,047	0,045	0,045	0,049	0,048	0,045	0,044
-1	0,045	0,046	0,046	0,046	0,047	0,049	0,047	0,046
1	0,045	0,044	0,048	0,048	0,046	0,047	0,046	0,045
2	0,044	0,048	0,046	0,048	0,048	0,048	0,043	0,044
3		0,047	0,045	0,045	0,047	0,048	0,044	
4			0,044	0,045	0,046	0,043		
Facteur Pétri	0,987							

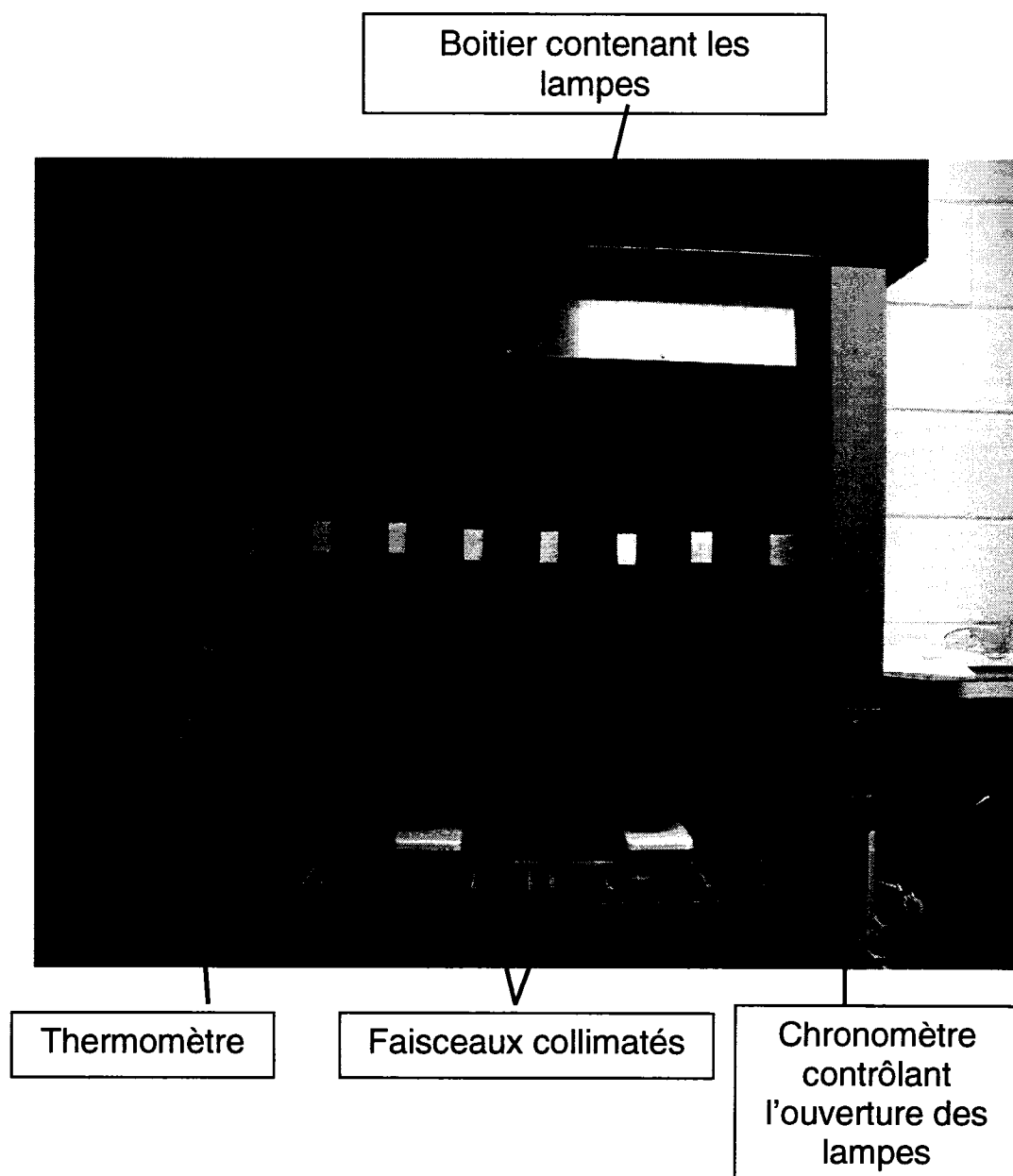
Répartition du taux de fluence à la sortie du tube #1

Tube #2								
cm	-4	-3	-2	-1	1	2	3	4
-4			0,047	0,047	0,048	0,048		
-3		0,048	0,049	0,049	0,049	0,049	0,048	
-2	0,046	0,046	0,047	0,047	0,047	0,046	0,047	0,046
-1	0,044	0,044	0,045	0,048	0,045	0,044	0,043	0,042
1	0,043	0,045	0,046	0,049	0,048	0,046	0,044	0,044
2	0,043	0,045	0,046	0,046	0,047	0,047	0,047	0,045
3		0,045	0,045	0,047	0,047	0,045	0,045	
4			0,046	0,046	0,047	0,044		
Facteur Pétri	0,968							

Répartition du taux de fluence à la sortie du tube #2

Tiré du mémoire de Louise-Michelle Verrier (INRS – Armand Frappier, 2004) qui a utilisée le même montage UV lors de sa maîtrise.

**ANNEXE C : PHOTO DESCRIPTIVE DU MONTAGE DE LAMPES UV À
FAISCEAUX COLLIMATÉS ET RÉSULTATS DE SA VALIDATION SELON
LES STANDARDS DE LA *NATIONAL WATER RESEARCH INSTITUTE***

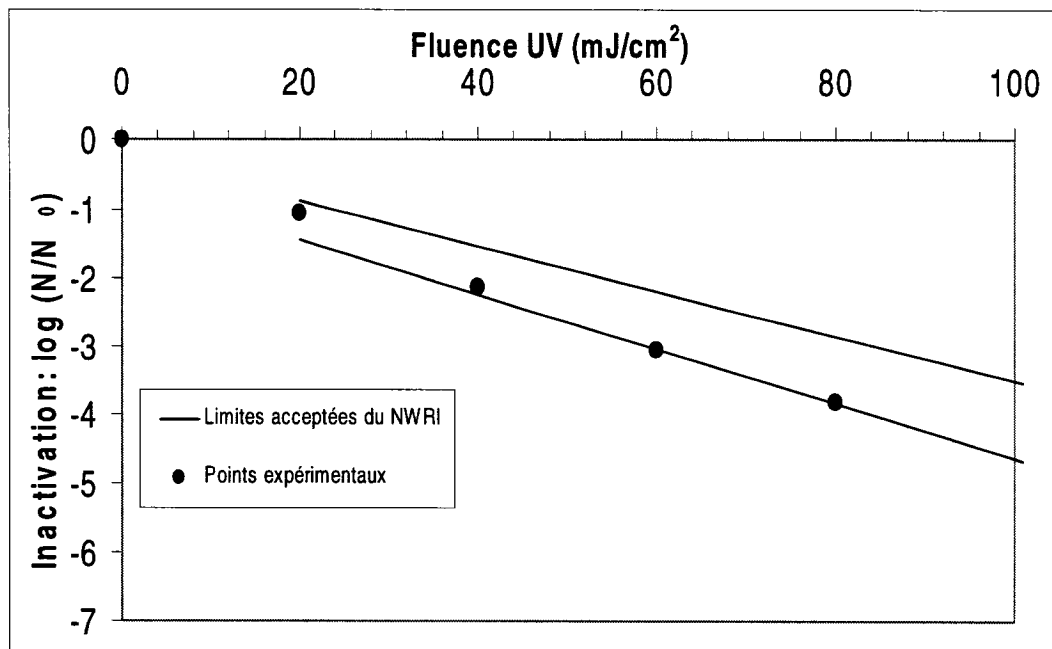


Validation du montage UV de l'IAF

La validation du montage a été effectuée avec des phages MS2. Généralement, un montage à faisceaux collimatés ne nécessite pas de validation, les bactériophages MS2 sont plutôt utilisés comme indicateur biodosimétrique afin d'évaluer la fluence transmise par un réacteur en continu. Des essais d'inactivation ont été effectués avec MS2 afin de vérifier si nos techniques de manipulations étaient adéquates.

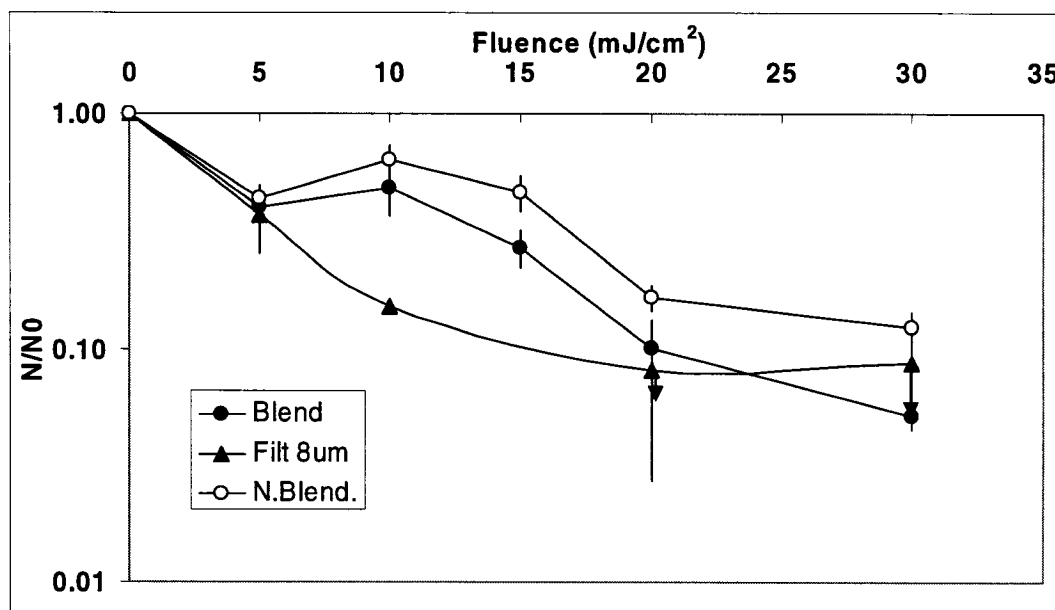
La souche *E. coli* ATCC 15597 était utilisée comme bactérie hôte pour les phages MS2. Le milieu nutritif utilisé était de type « *tryptic soy* ». La souche *E. coli* était cultivée dans un bouillon nutritif appelé « *tryptic soy broth* » (TSB), pendant 24h à 37°C afin que les phages soient mis en contact avec une souche bactérienne fraîche et active. En plus du bouillon, deux autres milieux de culture devaient être préparés. Un milieu solide appelé « *tryptic soy agar* » (TSA) et un dernier étant un mélange de TSA et de TSB, plus précisément du TSB + 1,5% agar (agar mou). Ce dernier reste liquide à température de 49°C mais se solidifie à la température de la pièce. La fluence était déterminée tel que décrit dans l'annexe A. Des Petris contenant 50 mL d'eau nanopure ont été inoculés avec une concentration définie de phages MS2. Pendant la phase d'irradiation, la solution était constamment mélangée par un agitateur magnétique. Cinq fluence ont été appliquées, soit; 0, 20, 40, 60 et 80 mJ/cm² et chacune à été appliqué deux fois (deux Pétris). Pour effectuer le titrage des phages MS2 suite aux irradiations, 1 mL de la solution de phages était mélangée avec 1 mL de solution de culture d'*E.coli* ATCC 15597 (préalablement incubée pendant les 24h précédentes) dans la solution d'agar mou à 49°C, le tout était ensuite coulé dans un Petri de TSA. Pour chaque fluence d'UV appliquée, trois dilution de la solution de phages ont été énumérées afin d'obtenir une quantité de plage de lyses adéquates ($20 < x < 300$ / Petri). Après une incubation de 24h à 37°C, les plages de lyses ont été dénombrées.

Résultats de validation MS2

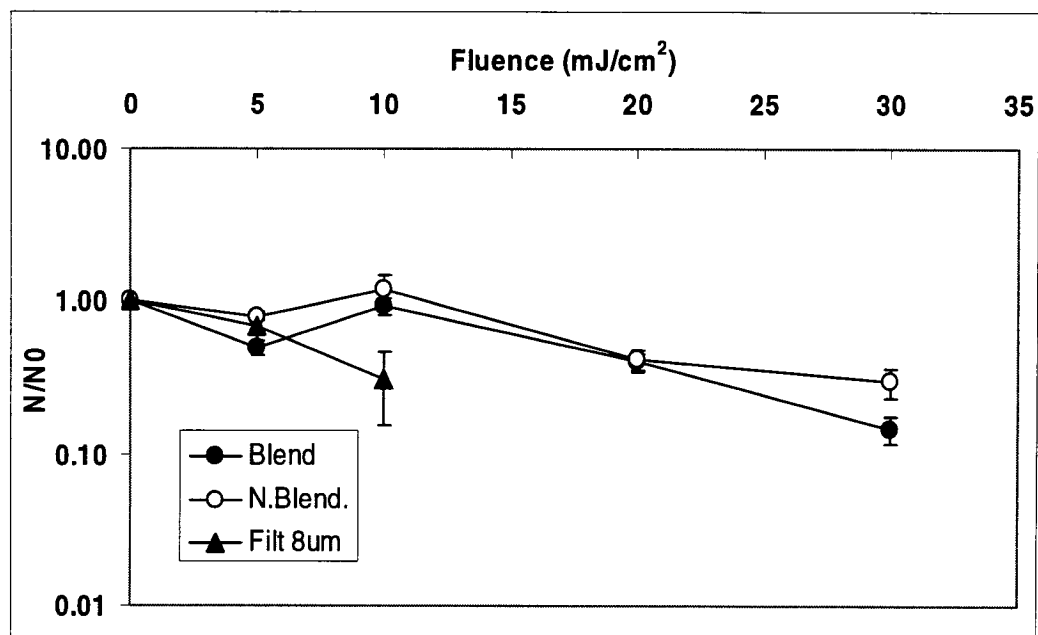


Afin que nos essais avec les MS2 soient valides, les points expérimentaux devaient se trouver entre les limites définies par le National Water Research Institute (NWRI). Ainsi, comme tous les points se situent entre les limites, le montage et le protocole sont considérés valides.

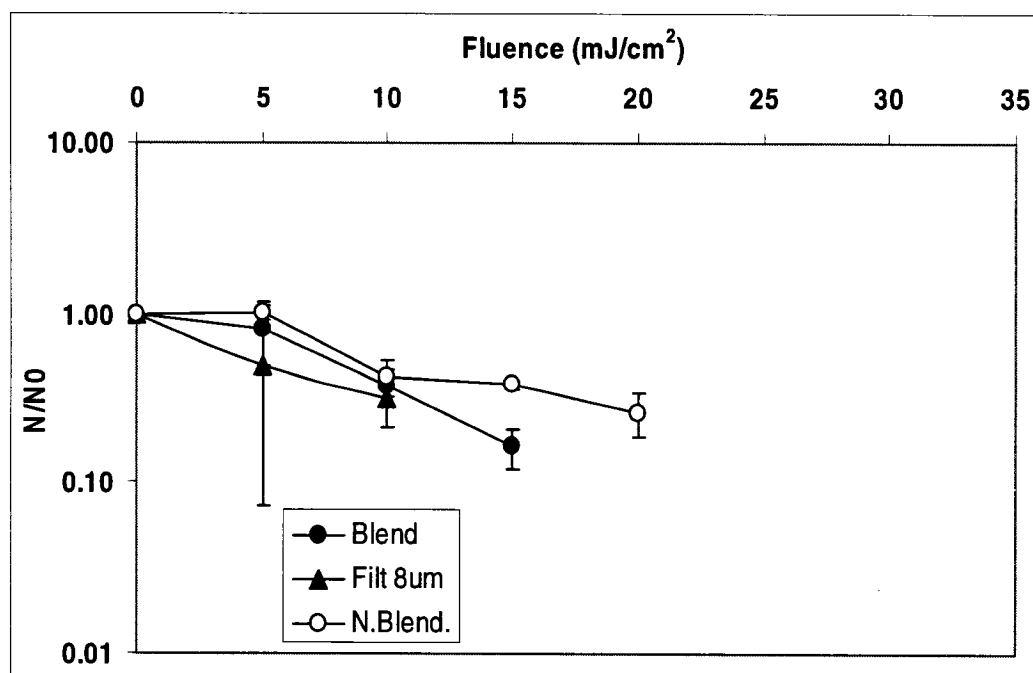
ANNEXE D : RÉSULTATS BRUTS SOUS FORMES NUMÉRIQUE ET GRAPHIQUE



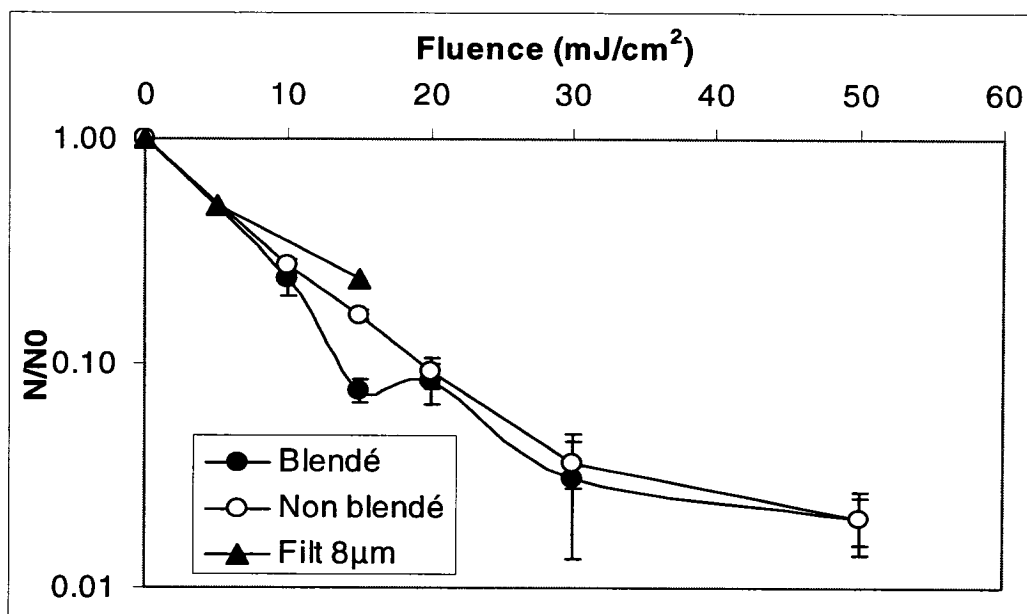
Fleuve St-Laurent (DesBaillets), le 22 novembre 2005



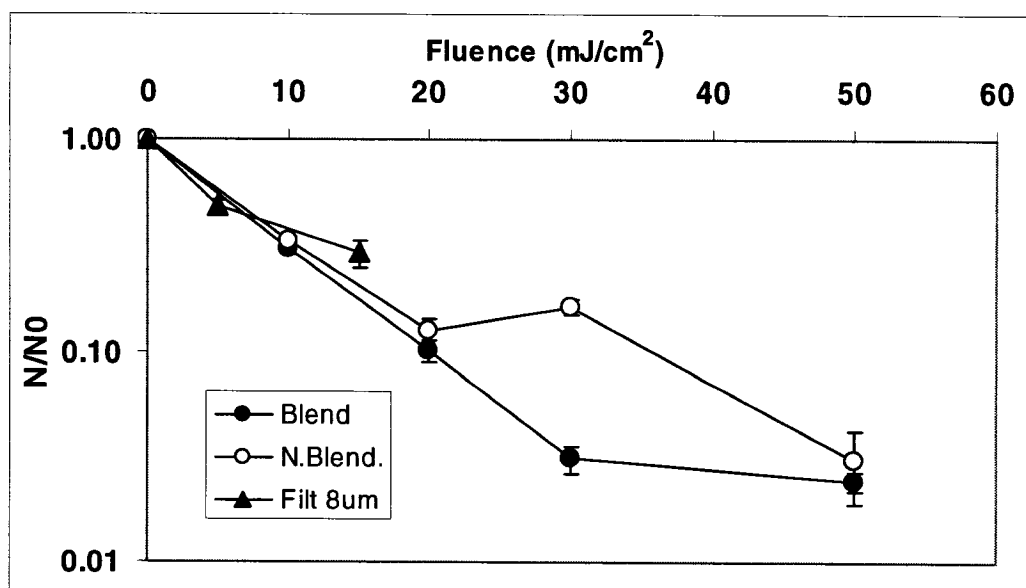
Fleuve St-Laurent (DesBaillets), le 19 décembre 2005



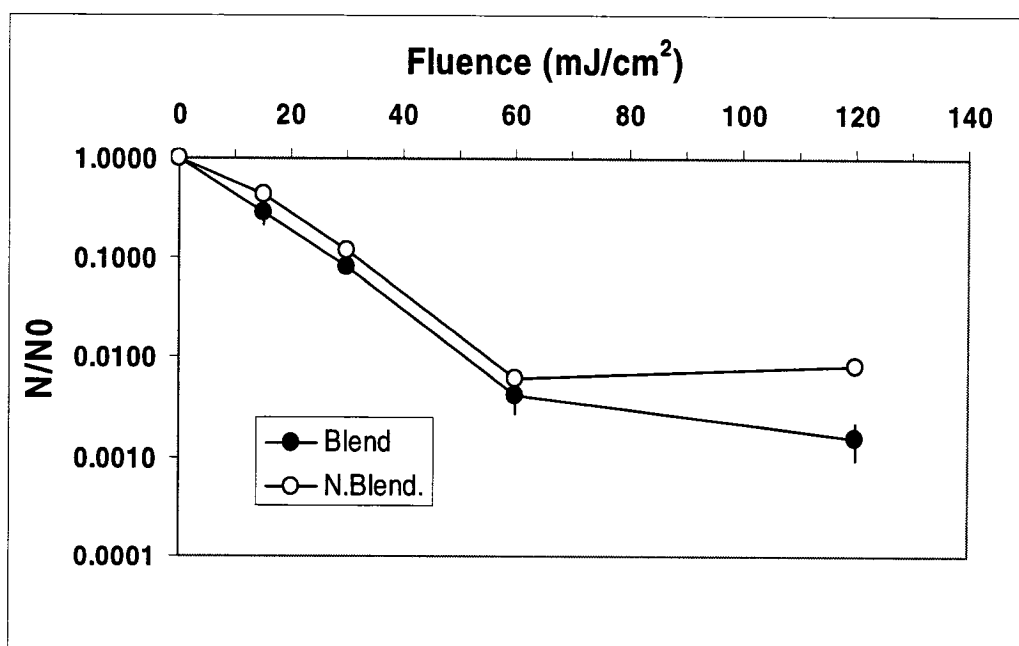
Fleuve St-Laurent (DesBaillets), le 13 janvier 2006



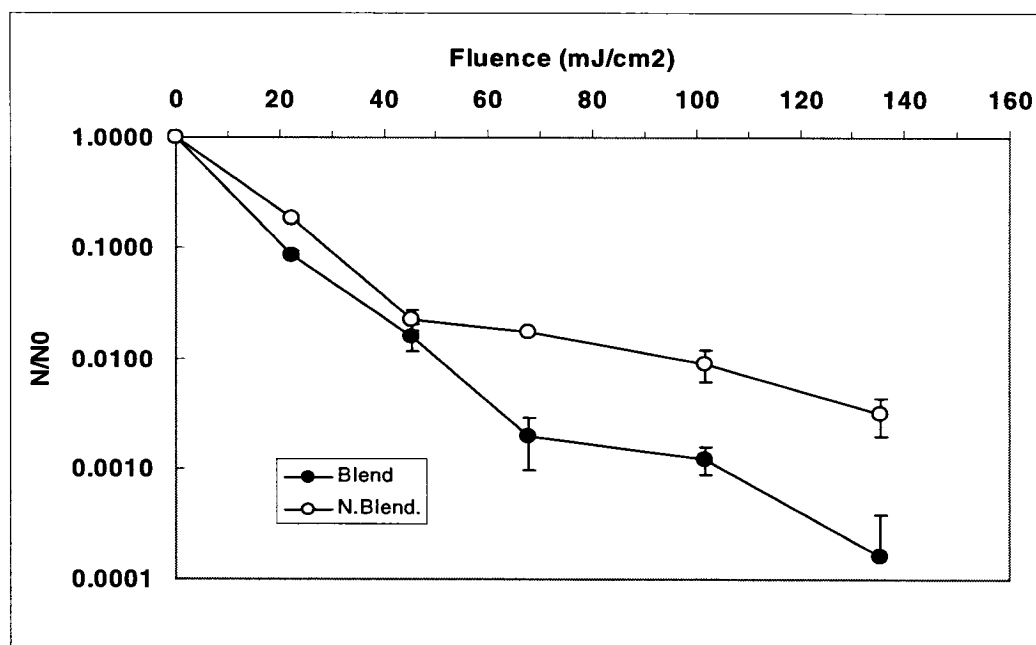
Fleuve St-Laurent (DesBaillets), le 18 janvier 2006



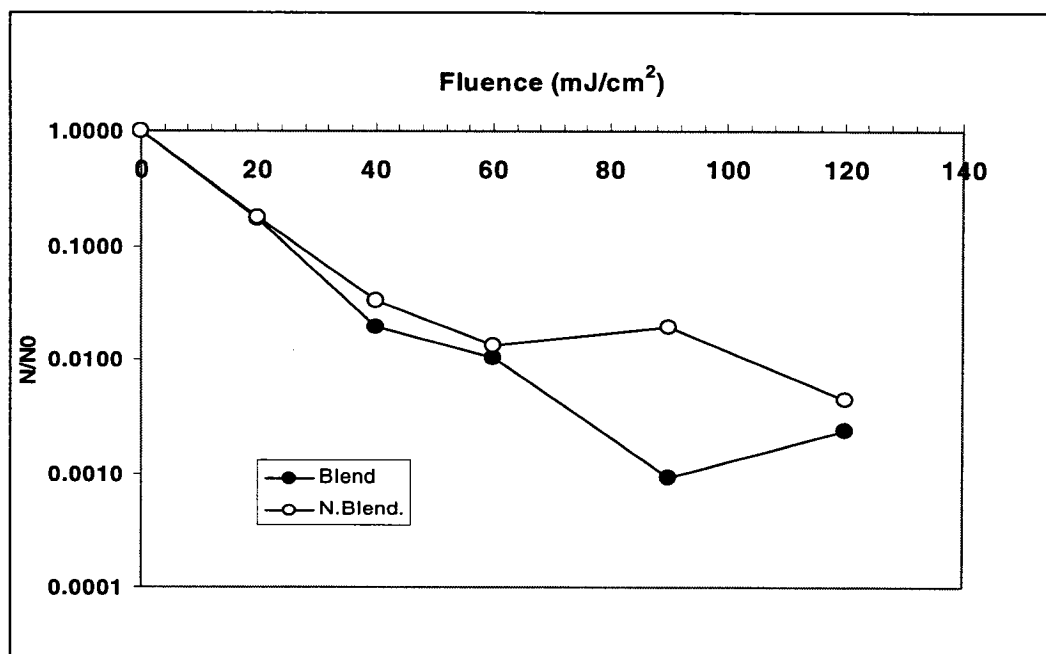
Fleuve St-Laurent (DesBaillets), le 19 janvier 2006



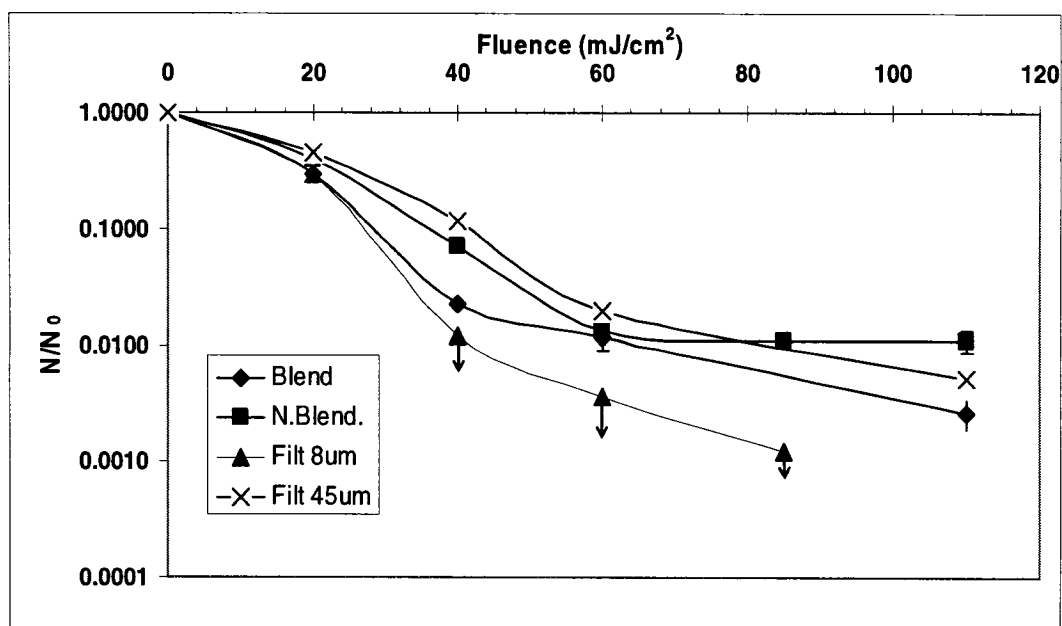
Rivière Des Mille-Îles (Terrebonne), le 17 octobre 2005



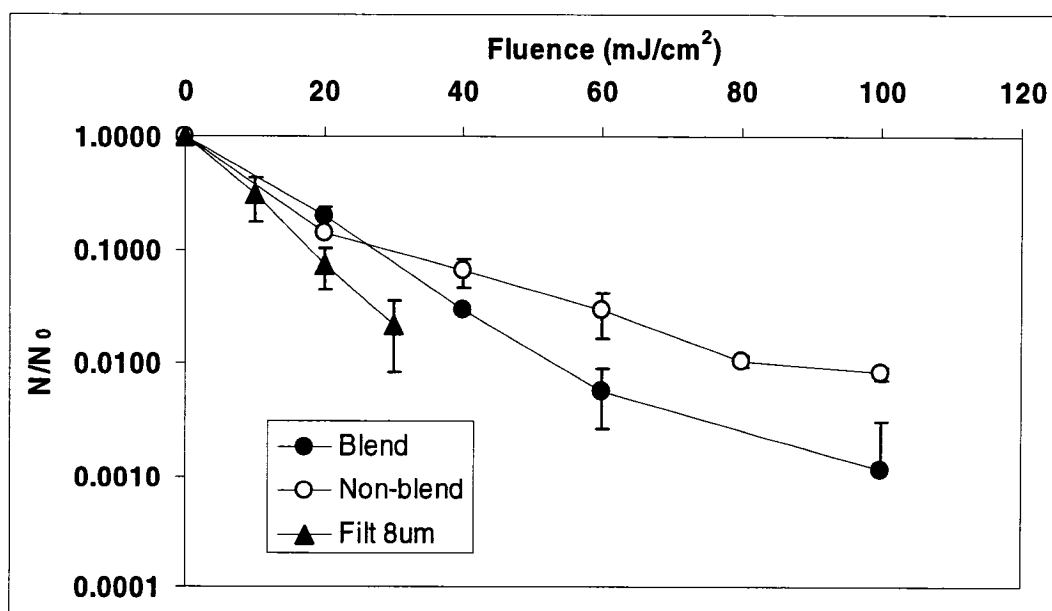
Rivière Des Mille-Îles (Terrebonne), le 18 octobre 2005



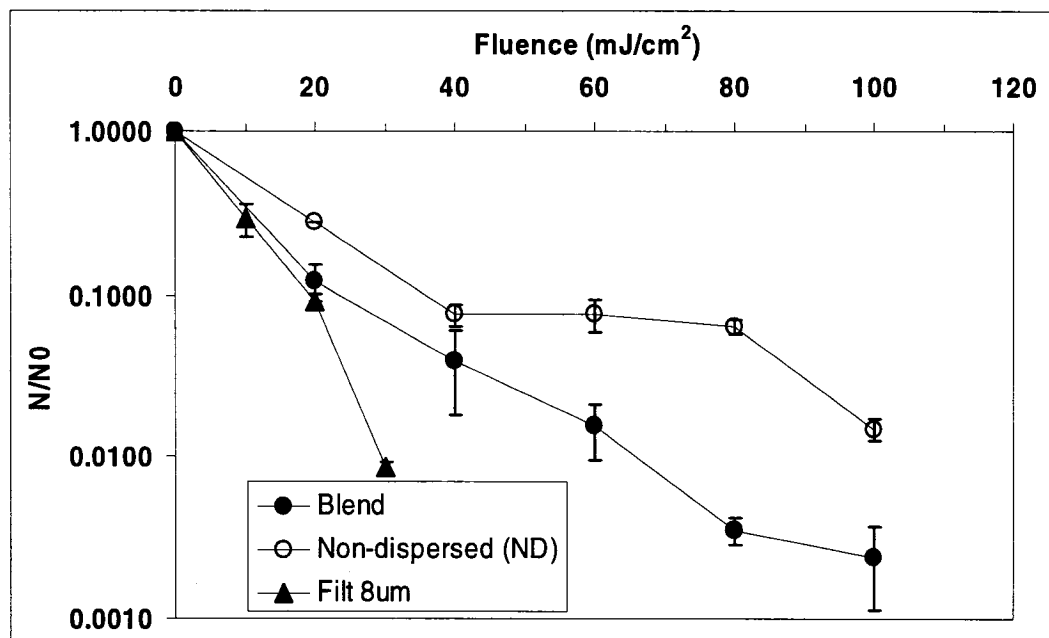
Rivière Des Mille-Îles (Terrebonne), le 16 novembre 2005



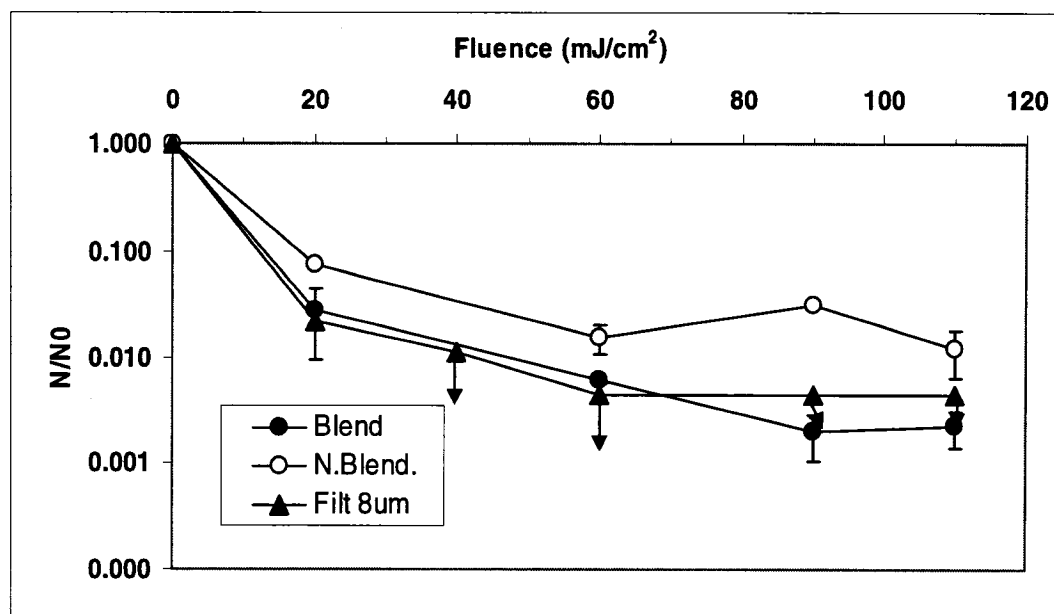
Rivière Des Mille-Îles (Terrebonne), le 24 janvier 2006



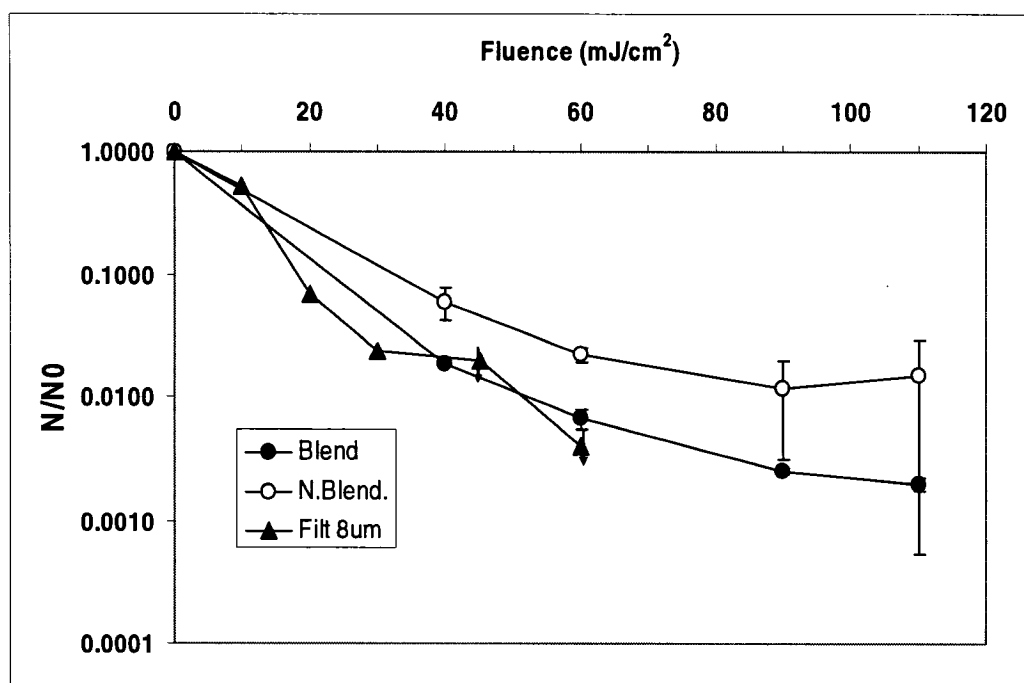
Rivière Des Mille-Îles (Terrebonne), le 12 avril 2006



Rivière Des Mille-Îles (Terrebonne), le 18 avril 2006



Eaux usées de la Ville de Montréal, le 29 novembre 2005



Eaux usées de la Ville de Montréal, le 5 décembre 2005

Date	Type d'eau	Traitement	Dose UV	Vol. filtré (mL)	N	Conc.(UFC/100ml)	NNo	Moy. N/NO	Moy.log l
191205	DesBaillets	B	0	50	31	62	1,000000	1,000000	0,000000
191205	DesBaillets	B	0	50	42	84	1,000000		
191205	DesBaillets	B	0	50	46	92	1,000000		
191205	DesBaillets	B	5	50	21	42	0,529412	0,495798	-0,304695
191205	DesBaillets	B	5	50	21	42	0,529412		
191205	DesBaillets	B	5	50	17	34	0,428571		
191205	DesBaillets	B	10	50	36	72	0,907563	0,932773	-0,030224
191205	DesBaillets	B	10	50	42	84	1,058824		
191205	DesBaillets	B	10	50	33	66	0,831933		
191205	DesBaillets	B	20	100	36	36	0,453782	0,407563	-0,389805
191205	DesBaillets	B	20	100	33	33	0,415966		
191205	DesBaillets	B	20	100	28	28	0,352941		
191205	DesBaillets	B	30	100	9	9	0,113445	0,147059	-0,832509
191205	DesBaillets	B	30	100	13	13	0,163866		
191205	DesBaillets	B	30	100	13	13	0,163866		
191205	DesBaillets	NB	0	50	31	62	1,000000	1,000000	0,000000
191205	DesBaillets	NB	0	50	42	84	1,000000		
191205	DesBaillets	NB	0	50	46	92	1,000000		
191205	DesBaillets	NB	5	50	33	66	0,831933	0,789916	-0,102419
191205	DesBaillets	NB	5	50	32	64	0,806723		
191205	DesBaillets	NB	5	50	29	58	0,731092		
191205	DesBaillets	NB	10	50	37	74	0,932773	1,184874	0,073672
191205	DesBaillets	NB	10	50	44	88	1,109244		
191205	DesBaillets	NB	10	50	60	120	1,512605		
191205	DesBaillets	NB	20	100	28	28	0,352941	0,411765	-0,385351
191205	DesBaillets	NB	20	100	39	39	0,491597		
191205	DesBaillets	NB	20	100	31	31	0,390756		
191205	DesBaillets	NB	30	100	25	25	0,315126	0,298319	-0,525319
191205	DesBaillets	NB	30	100	18	18	0,226891		
191205	DesBaillets	NB	30	100	28	28	0,352941		
191205	DesBaillets	F8	0	100	21	21	1,000000	1,000000	0,000000
191205	DesBaillets	F8	0	100	12	12	1,000000		
191205	DesBaillets	F8	0	100	28	28	1,000000		
191205	DesBaillets	F8	5	100	18	18	0,885246	0,688525	-0,162081
191205	DesBaillets	F8	5	100	13	13	0,639344		
191205	DesBaillets	F8	5	100	11	11	0,540984		
191205	DesBaillets	F8	10	100	4	4	0,196721	0,311475	-0,506576

191205	DesBaillets	F8	10	100	10	10	0,491803		
191205	DesBaillets	F8	10	100	5	5	0,245902		
221105	DesBaillets	B	0	10	28	280	1,000000	1,000000	0,000000
221105	DesBaillets	B	0	10	24	240	1,000000		
221105	DesBaillets	B	0	10	21	210	1,000000		
221105	DesBaillets	B	5	20	23	115	0,472603	0,397260	-0,400925
221105	DesBaillets	B	5	20	21	105	0,431507		
221105	DesBaillets	B	5	20	14	70	0,287671		
221105	DesBaillets	B	10	40	53	132,5	0,544521	0,482877	-0,316164
221105	DesBaillets	B	10	40	34	85	0,349315		
221105	DesBaillets	B	10	40	54	135	0,554795		
221105	DesBaillets	B	15	100	79	79	0,324658	0,271233	-0,566658
221105	DesBaillets	B	15	100	64	64	0,263014		
221105	DesBaillets	B	15	100	55	55	0,226027		
221105	DesBaillets	B	20	100	26	26	0,106849	0,101370	-0,994091
221105	DesBaillets	B	20	100	23	23	0,094521		
221105	DesBaillets	B	20	100	25	25	0,102740		
221105	DesBaillets	B	30	100	14	14	0,057534	0,052055	-1,283539
221105	DesBaillets	B	30	100	11	11	0,045205		
221105	DesBaillets	B	30	100	13	13	0,053425		
221105	DesBaillets	NB	0	10	28	280	1,000000	1,000000	0,000000
221105	DesBaillets	NB	0	10	24	240	1,000000		
221105	DesBaillets	NB	0	10	21	210	1,000000		
221105	DesBaillets	NB	5	20	19	95	0,390411	0,438356	-0,358173
221105	DesBaillets	NB	5	20	24	120	0,493151		
221105	DesBaillets	NB	5	20	21	105	0,431507		
221105	DesBaillets	NB	10	40	71	177,5	0,729452	0,636986	-0,195870
221105	DesBaillets	NB	10	40	52	130	0,534247		
221105	DesBaillets	NB	10	40	63	157,5	0,647260		
221105	DesBaillets	NB	15	100	94	94	0,386301	0,464384	-0,333123
221105	DesBaillets	NB	15	100	133	133	0,546575		
221105	DesBaillets	NB	15	100	112	112	0,460274		
221105	DesBaillets	NB	20	100	38	38	0,156164	0,165753	-0,780537
221105	DesBaillets	NB	20	100	37	37	0,152055		
221105	DesBaillets	NB	20	100	46	46	0,189041		
221105	DesBaillets	NB	30	100	26	26	0,106849	0,124658	-0,904281
221105	DesBaillets	NB	30	100	35	35	0,143836		
221105	DesBaillets	NB	30	100	30	30	0,123288		

221105	DesBaillets	F8	0	50	23	46	1,000000	1,000000	0,000000
221105	DesBaillets	F8	0	50	19	38	1,000000		
221105	DesBaillets	F8	0	50	32	64	1,000000		
221105	DesBaillets	F8	5	20	3	15	0,304054	0,371622	-0,429899
221105	DesBaillets	F8	5	20	5	25	0,506757		
221105	DesBaillets	F8	5	20	3	15	0,304054		
221105	DesBaillets	F8	10	40	3	7,5	0,152027	0,152027	-0,818079
221105	DesBaillets	F8	10	40	3	7,5	0,152027		
221105	DesBaillets	F8	10	40	3	7,5	0,152027		
221105	DesBaillets	F8	20	100	7	7	0,141892	0,081081	-1,091080
221105	DesBaillets	F8	20	100	2	2	0,040541		
221105	DesBaillets	F8	20	100	3	3	0,060811		
221105	DesBaillets	F8	30	100	2	2	0,040541	0,087838	-1,056318
221105	DesBaillets	F8	30	100	5	5	0,101351		
221105	DesBaillets	F8	30	100	6	6	0,121622		
130106	DesBaillets	B	0	50	37	74	1,000000	1,000000	0,000000
130106	DesBaillets	B	0	50	37	74	1,000000		
130106	DesBaillets	B	0	50	29	58	1,000000		
130106	DesBaillets	B	5	50	40	80	1,165049	0,805825	-0,093759
130106	DesBaillets	B	5	50	20	40	0,582524		
130106	DesBaillets	B	5	50	23	46	0,669903		
130106	DesBaillets	B	10	50	13	26	0,378641	0,378641	-0,421773
130106	DesBaillets	B	10	50	16	32	0,466019		
130106	DesBaillets	B	10	50	10	20	0,291262		
130106	DesBaillets	B	15	100	14	14	0,203883	0,165049	-0,782388
130106	DesBaillets	B	15	100	12	12	0,174757		
130106	DesBaillets	B	15	100	8	8	0,116505		
130106	DesBaillets	B	20	100	35	35	0,509709	0,451456	-0,345384
130106	DesBaillets	B	20	100	32	32	0,466019		
130106	DesBaillets	B	20	100	26	26	0,378641		
130106	DesBaillets	NB	0	50	37	74	1,000000	1,000000	0,000000
130106	DesBaillets	NB	0	50	37	74	1,000000		
130106	DesBaillets	NB	0	50	29	58	1,000000		
130106	DesBaillets	NB	5	50	41	82	1,194175	1,009709	0,004196
130106	DesBaillets	NB	5	50	30	60	0,873786		
130106	DesBaillets	NB	5	50	33	66	0,961165		
130106	DesBaillets	NB	10	50	15	30	0,436893	0,427184	-0,369385
130106	DesBaillets	NB	10	50	11	22	0,320388		

130106	DesBaillets	NB	10	50	18	36	0,524272		
130106	DesBaillets	NB	15	100	25	25	0,364078	0,383495	-0,416240
130106	DesBaillets	NB	15	100	26	26	0,378641		
130106	DesBaillets	NB	15	100	28	28	0,407767		
130106	DesBaillets	NB	20	100	21	21	0,305825	0,262136	-0,581473
130106	DesBaillets	NB	20	100	21	21	0,305825		
130106	DesBaillets	NB	20	100	12	12	0,174757		
130106	DesBaillets	F8	0	100	17	17	1,000000	1,000000	0,000000
130106	DesBaillets	F8	0	100	22	22	1,000000		
130106	DesBaillets	F8	0	100	21	21	1,000000		
130106	DesBaillets	F8	5	100	18	18	0,900000	0,500000	-0,301030
130106	DesBaillets	F8	5	100	1	1	0,050000		
130106	DesBaillets	F8	5	100	11	11	0,550000		
130106	DesBaillets	F8	10	100	7	7	0,350000	0,316667	-0,493396
130106	DesBaillets	F8	10	100	4	4	0,200000		
130106	DesBaillets	F8	10	100	8	8	0,400000		
180106	DesBaillets	B	0	20	79	395	1,000000	1,000000	0,000000
180106	DesBaillets	B	0	20	108	540	1,000000		
180106	DesBaillets	B	0	20	97	485	1,000000		
180106	DesBaillets	B	10	50	65	130	0,274648	0,238028	-0,623372
180106	DesBaillets	B	10	50	48	96	0,202817		
180106	DesBaillets	B	10	50	56	112	0,236620		
180106	DesBaillets	B	15	50	18	36	0,076056	0,076056	-1,118865
180106	DesBaillets	B	15	50	16	32	0,067606		
180106	DesBaillets	B	15	50	20	40	0,084507		
180106	DesBaillets	B	20	50	21	42	0,088732	0,083099	-1,080406
180106	DesBaillets	B	20	50	15	30	0,063380		
180106	DesBaillets	B	20	50	23	46	0,097183		
180106	DesBaillets	B	30	50	12	24	0,050704	0,030986	-1,508836
180106	DesBaillets	B	30	50	4	8	0,016901		
180106	DesBaillets	B	30	50	6	12	0,025352		
180106	DesBaillets	B	50	100	11	11	0,023239	0,020423	-1,689890
180106	DesBaillets	B	50	100	11	11	0,023239		
180106	DesBaillets	B	50	100	7	7	0,014789		
180106	DesBaillets	NB	0	20	79	395	1,000000	1,000000	0,000000
180106	DesBaillets	NB	0	20	108	540	1,000000		
180106	DesBaillets	NB	0	20	97	485	1,000000		
180106	DesBaillets	NB	10	50	70	140	0,295775	0,274648	-0,561224

180106	DesBaillets	NB	10	50	64	128	0,270423		
180106	DesBaillets	NB	10	50	61	122	0,257746		
180106	DesBaillets	NB	15	100	80	80	0,169014	0,165493	-0,781220
180106	DesBaillets	NB	15	100	81	81	0,171127		
180106	DesBaillets	NB	15	100	74	74	0,156338		
180106	DesBaillets	NB	20	100	48	48	0,101408	0,091549	-1,038345
180106	DesBaillets	NB	20	100	36	36	0,076056		
180106	DesBaillets	NB	20	100	46	46	0,097183		
180106	DesBaillets	NB	30	50	11	22	0,046479	0,036620	-1,436285
180106	DesBaillets	NB	30	50	8	16	0,033803		
180106	DesBaillets	NB	30	50	7	14	0,029577		
180106	DesBaillets	NB	50	100	13	13	0,027465	0,019718	-1,705130
180106	DesBaillets	NB	50	100	8	8	0,016901		
180106	DesBaillets	NB	50	100	7	7	0,014789		
180106	DesBaillets	F8	0	100	203	203	1,000000	1,000000	0,000000
180106	DesBaillets	F8	0	100	246	246	1,000000		
180106	DesBaillets	F8	0	100	191	191	1,000000		
180106	DesBaillets	F8	5	100	105	105	0,492188	0,509375	-0,292962
180106	DesBaillets	F8	5	100	113	113	0,529688		
180106	DesBaillets	F8	5	100	108	108	0,506250		
180106	DesBaillets	F8	15	100	51	51	0,239063	0,240625	-0,618659
180106	DesBaillets	F8	15	100	54	54	0,253125		
180106	DesBaillets	F8	15	100	49	49	0,229688		
200106	DesBaillets	B	0	20	88	440	1,000000	1,000000	0,000000
200106	DesBaillets	B	0	20	92	460	1,000000		
200106	DesBaillets	B	0	20	82	410	1,000000		
200106	DesBaillets	B	10	50	65	130	0,297710	0,305344	-0,515211
200106	DesBaillets	B	10	50	64	128	0,293130		
200106	DesBaillets	B	10	50	71	142	0,325191		
200106	DesBaillets	B	20	50	20	40	0,091603	0,100763	-0,996697
200106	DesBaillets	B	20	50	25	50	0,114504		
200106	DesBaillets	B	20	50	21	42	0,096183		
200106	DesBaillets	B	30	100	13	13	0,029771	0,031298	-1,504487
200106	DesBaillets	B	30	100	16	16	0,036641		
200106	DesBaillets	B	30	100	12	12	0,027481		
200106	DesBaillets	B	50	50	5	10	0,022901	0,024427	-1,612121
200106	DesBaillets	B	50	50	5	10	0,022901		
200106	DesBaillets	B	50	50	6	12	0,027481		

200106	DesBaillets	NB	0	20	88	440	1,000000	1,000000	0,000000
200106	DesBaillets	NB	0	20	92	460	1,000000		
200106	DesBaillets	NB	0	20	82	410	1,000000		
200106	DesBaillets	NB	10	50	75	150	0,343511	0,329771	-0,481788
200106	DesBaillets	NB	10	50	72	144	0,329771		
200106	DesBaillets	NB	10	50	69	138	0,316031		
200106	DesBaillets	NB	20	50	24	48	0,109924	0,123664	-0,907756
200106	DesBaillets	NB	20	50	30	60	0,137405		
200106	DesBaillets	NB	30	100	64	64	0,146565	0,162595	-0,788892
200106	DesBaillets	NB	30	100	78	78	0,178626		
200106	DesBaillets	NB	30	100	71	71	0,162595		
200106	DesBaillets	NB	50	100	9	9	0,020611	0,015267	-1,816241
200106	DesBaillets	NB	50	100	4	4	0,009160		
200106	DesBaillets	NB	50	100	7	7	0,016031		
200106	DesBaillets	F8	0	100	330	330	1,000000	1,000000	0,000000
200106	DesBaillets	F8	0	100	322	322	1,000000		
200106	DesBaillets	F8	0	100	370	370	1,000000		
200106	DesBaillets	F8	5	100	179	179	0,525440	0,484344	-0,314846
200106	DesBaillets	F8	5	100	156	156	0,457926		
200106	DesBaillets	F8	5	100	160	160	0,469667		
200106	DesBaillets	F8	15	100	108	108	0,317025	0,289628	-0,538159
200106	DesBaillets	F8	15	100	106	106	0,311155		
200106	DesBaillets	F8	15	100	82	82	0,240705		
171005	Terrebonne	B	0	1	189	18900	1,000000	1,000000	0,000000
171005	Terrebonne	B	0	1	190	19000	1,000000		
171005	Terrebonne	B	0	1	150	15000	1,000000		
171005	Terrebonne	B	15	1	37	3700	0,209830	0,275992	-0,559103
171005	Terrebonne	B	15	1	61	6100	0,345936		
171005	Terrebonne	B	15	1	48	4800	0,272212		
171005	Terrebonne	B	30	10	150	1500	0,085066	0,079017	-1,102279
171005	Terrebonne	B	30	10	152	1520	0,086200		
171005	Terrebonne	B	30	10	116	1160	0,065784		
171005	Terrebonne	B	60	10	5	50	0,002836	0,004159	-2,381033
171005	Terrebonne	B	60	10	7	70	0,003970		
171005	Terrebonne	B	60	10	10	100	0,005671		
171005	Terrebonne	B	120	100	20	20	0,001134	0,001588	-2,799176
171005	Terrebonne	B	120	100	36	36	0,002042		
171005	Terrebonne	NB	0	1	189	18900	1,000000	1,000000	0,000000

171005	Terrebonne	NB	0	1	190	19000	1,000000		
171005	Terrebonne	NB	0	1	150	15000	1,000000		
171005	Terrebonne	NB	15	1	88	8800	0,499055	0,431002	-0,365521
171005	Terrebonne	NB	15	1	72	7200	0,408318		
171005	Terrebonne	NB	15	1	68	6800	0,385633		
171005	Terrebonne	NB	30	10	191	1910	0,108318	0,114745	-0,940267
171005	Terrebonne	NB	30	10	224	2240	0,127032		
171005	Terrebonne	NB	30	10	192	1920	0,108885		
171005	Terrebonne	NB	60	10	11	110	0,006238	0,005955	-2,225145
171005	Terrebonne	NB	60	10	10	100	0,005671		
171005	Terrebonne	NB	120	50	69	138	0,007826	0,008053	-2,094046
171005	Terrebonne	NB	120	50	73	146	0,008280		
181005	Terrebonne	B	0	1	76	7600	1,000000	1,000000	0,000000
181005	Terrebonne	B	0	1	61	6100	1,000000		
181005	Terrebonne	B	0	1	71	7100	1,000000		
181005	Terrebonne	B	22,5	10	58	580	0,083654	0,087019	-1,060385
181005	Terrebonne	B	22,5	10	57	570	0,082212		
181005	Terrebonne	B	22,5	10	66	660	0,095192		
181005	Terrebonne	B	45,2	10	8	80	0,011538	0,015865	-1,799549
181005	Terrebonne	B	45,2	10	14	140	0,020192		
181005	Terrebonne	B	45,2	10	11	110	0,015865		
181005	Terrebonne	B	67,8	15	3	20	0,002885	0,001923	-2,716003
181005	Terrebonne	B	67,8	15	2	13,33333333	0,001923		
181005	Terrebonne	B	67,8	15	1	6,66666667	0,000962		
181005	Terrebonne	B	101,6	30	3	10	0,001442	0,001202	-2,920123
181005	Terrebonne	B	101,6	30	2	6,66666667	0,000962		
181005	Terrebonne	B	135,4	45	0,33333	0,74073333	0,000107	0,000214	-3,670247
181005	Terrebonne	B	135,4	45	1	2,22222222	0,000321		
181005	Terrebonne	NB	0	1	76	7600	1,000000	1,000000	0,000000
181005	Terrebonne	NB	0	1	61	6100	1,000000		
181005	Terrebonne	NB	0	1	71	7100	1,000000		
181005	Terrebonne	NB	22,5	10	121	1210	0,174519	0,184135	-0,734865
181005	Terrebonne	NB	22,5	10	130	1300	0,187500		
181005	Terrebonne	NB	22,5	10	132	1320	0,190385		
181005	Terrebonne	NB	45,2	10	18	180	0,025962	0,022596	-1,645965
181005	Terrebonne	NB	45,2	10	17	170	0,024519		
181005	Terrebonne	NB	45,2	10	12	120	0,017308		
181005	Terrebonne	NB	67,8	50	61	122	0,017596	0,017500	-1,756962

181005	Terrebonne	NB	67,8	50	59	118	0,017019		
181005	Terrebonne	NB	67,8	50	62	124	0,017885		
181005	Terrebonne	NB	101,6	50	28	56	0,008077	0,008942	-2,048550
181005	Terrebonne	NB	101,6	50	23	46	0,006635		
181005	Terrebonne	NB	101,6	50	42	84	0,012115		
181005	Terrebonne	NB	135,4	50	10	20	0,002885	0,003077	-2,511883
181005	Terrebonne	NB	135,4	50	7	14	0,002019		
181005	Terrebonne	NB	135,4	50	15	30	0,004327		
161105	Terrebonne	B	0	1	51	5100	1,000000	1,000000	0,000000
161105	Terrebonne	B	0	1	50	5000	1,000000		
161105	Terrebonne	B	0	1	52	5200	1,000000		
161105	Terrebonne	B	20	10	94	940	0,184314	0,173203	-0,761446
161105	Terrebonne	B	20	10	89	890	0,174510		
161105	Terrebonne	B	20	10	82	820	0,160784		
161105	Terrebonne	B	40	10	16	160	0,031373	0,019608	-1,707570
161105	Terrebonne	B	40	10	11	110	0,021569		
161105	Terrebonne	B	40	10	3	30	0,005882		
161105	Terrebonne	B	60	50	11	22	0,004314	0,010327	-1,966034
161105	Terrebonne	B	60	50	29	58	0,011373		
161105	Terrebonne	B	60	50	39	78	0,015294		
161105	Terrebonne	B	90	100	4	4	0,000784	0,000915	-3,038563
161105	Terrebonne	B	90	100	5	5	0,000980		
161105	Terrebonne	B	90	100	5	5	0,000980		
161105	Terrebonne	B	120	140	11	7,857142857	0,001541	0,002381	-2,623249
161105	Terrebonne	B	120	140	23	16,42857143	0,003221		
161105	Terrebonne	NB	0	1	51	5100	1,000000	1,000000	0,000000
161105	Terrebonne	NB	0	1	50	5000	1,000000		
161105	Terrebonne	NB	0	1	52	5200	1,000000		
161105	Terrebonne	NB	20	5	46	920	0,180392	0,177778	-0,750123
161105	Terrebonne	NB	20	5	44	880	0,172549		
161105	Terrebonne	NB	20	5	46	920	0,180392		
161105	Terrebonne	NB	40	10	16	160	0,031373	0,033333	-1,477121
161105	Terrebonne	NB	40	10	17	170	0,033333		
161105	Terrebonne	NB	40	10	18	180	0,035294		
161105	Terrebonne	NB	60	50	35	70	0,013725	0,013333	-1,875061
161105	Terrebonne	NB	60	50	35	70	0,013725		
161105	Terrebonne	NB	60	50	32	64	0,012549		
161105	Terrebonne	NB	90	150	198	132	0,025882	0,019608	-1,707570

161105	Terrebonne	NB	90	150	102	68	0,013333		
161105	Terrebonne	NB	120	150	35	23,33333333	0,004575	0,004444	-2,352183
161105	Terrebonne	NB	120	150	33	22	0,004314		
161105	Terrebonne	F8	0	10	101	1010	1,000000	1,000000	0,000000
161105	Terrebonne	F8	0	10	75	750	1,000000		
161105	Terrebonne	F8	0	10	74	740	1,000000		
161105	Terrebonne	F8	20	10	3	30	0,036000	0,032000	-1,494850
161105	Terrebonne	F8	20	10	3	30	0,036000		
161105	Terrebonne	F8	20	10	2	20	0,024000		
161105	Terrebonne	F8	40	10	0,33333	3,3333	0,004000	0,006667	-2,176093
161105	Terrebonne	F8	40	10	0,33333	3,3333	0,004000		
161105	Terrebonne	F8	40	10	1	10	0,012000		
161105	Terrebonne	F8	60	50	1	2	0,002400	0,002400	-2,619789
161105	Terrebonne	F8	60	50	1	2	0,002400		
161105	Terrebonne	F8	60	50	1	2	0,002400		
161105	Terrebonne	F8	90	100	0,3333	0,3333	0,000400	0,000400	-3,397983
161105	Terrebonne	F8	90	100	0,3333	0,3333	0,000400		
161105	Terrebonne	F8	90	100	0,3333	0,3333	0,000400		
161105	Terrebonne	F8	120	140	0,3333	0,238071429	0,000286	0,000571	-3,243049
161105	Terrebonne	F8	120	140	1	0,714285714	0,000857		
240106	Terrebonne	B	0	1	31	3100	1,000000	1,000000	0,000000
240106	Terrebonne	B	0	1	27	2700	1,000000		
240106	Terrebonne	B	0	1	33	3300	1,000000		
240106	Terrebonne	B	20	5	49	980	0,323077	0,296703	-0,527678
240106	Terrebonne	B	20	5	44	880	0,290110		
240106	Terrebonne	B	20	5	42	840	0,276923		
240106	Terrebonne	B	40	10	7	70	0,023077	0,023077	-1,636822
240106	Terrebonne	B	40	10	6	60	0,019780		
240106	Terrebonne	B	40	10	8	80	0,026374		
240106	Terrebonne	B	60	25	8	32	0,010549	0,011868	-1,925618
240106	Terrebonne	B	60	25	11	44	0,014505		
240106	Terrebonne	B	60	25	8	32	0,010549		
240106	Terrebonne	B	85	50	3	6	0,001978	0,001538	-2,812913
240106	Terrebonne	B	85	50	1	2	0,000659		
240106	Terrebonne	B	85	50	3	6	0,001978		
240106	Terrebonne	B	110	50	2	4	0,001319	0,002637	-2,578830
240106	Terrebonne	B	110	50	6	12	0,003956		
240106	Terrebonne	B	110	50	4	8	0,002637		

240106	Terrebonne	NB	0	1	31	3100	1,000000	1,000000	0,000000
240106	Terrebonne	NB	0	1	27	2700	1,000000		
240106	Terrebonne	NB	0	1	33	3300	1,000000		
240106	Terrebonne	NB	20	5	68	1360	0,448352	0,395604	-0,402739
240106	Terrebonne	NB	20	5	57	1140	0,375824		
240106	Terrebonne	NB	20	5	55	1100	0,362637		
240106	Terrebonne	NB	40	10	19	190	0,062637	0,072527	-1,139497
240106	Terrebonne	NB	40	10	25	250	0,082418		
240106	Terrebonne	NB	40	10	22	220	0,072527		
240106	Terrebonne	NB	60	25	14	56	0,018462	0,013626	-1,865620
240106	Terrebonne	NB	60	25	7	28	0,009231		
240106	Terrebonne	NB	60	25	10	40	0,013187		
240106	Terrebonne	NB	85	50	17	34	0,011209	0,006593	-2,180890
240106	Terrebonne	NB	85	50	6	12	0,003956		
240106	Terrebonne	NB	85	50	7	14	0,004615		
240106	Terrebonne	NB	110	50	18	36	0,011868	0,011209	-1,950441
240106	Terrebonne	NB	110	50	13	26	0,008571		
240106	Terrebonne	NB	110	50	20	40	0,013187		
240106	Terrebonne	F8	0	1	11	1100	1,000000	1,000000	0,000000
240106	Terrebonne	F8	0	1	16	1600	1,000000		
240106	Terrebonne	F8	0	1	6	600	1,000000		
240106	Terrebonne	F8	20	5	22	440	0,400000	0,296970	-0,527288
240106	Terrebonne	F8	20	5	14	280	0,254545		
240106	Terrebonne	F8	20	5	13	260	0,236364		
240106	Terrebonne	F8	40	10	3	30	0,027273	0,013131	-1,881692
240106	Terrebonne	F8	40	10	1	10	0,009091		
240106	Terrebonne	F8	40	10	0,33333	3,3333	0,003030		
240106	Terrebonne	F8	60	50	1	2	0,001818	0,003636	-2,439333
240106	Terrebonne	F8	60	50	1	2	0,001818		
240106	Terrebonne	F8	60	50	4	8	0,007273		
240106	Terrebonne	F8	85	50	1	2	0,001818	0,001414	-2,849513
240106	Terrebonne	F8	85	50	1	2	0,001818		
240106	Terrebonne	F8	85	50	0,3333	0,6666	0,000606		
240106	Terrebonne	F8	110	140	0,3333	0,238071429	0,000216	0,000433	-3,363623
240106	Terrebonne	F8	110	140	1	0,714285714	0,000649		
240106	Terrebonne	F45	0	1	20	2000	1,000000	1,000000	0,000000
240106	Terrebonne	F45	0	1	18	1800	1,000000		
240106	Terrebonne	F45	0	1	22	2200	1,000000		

240106	Terrebonne	F45	20	5	39	780	0,390000	0,453333	-0,343582
240106	Terrebonne	F45	20	5	39	780	0,390000		
240106	Terrebonne	F45	20	5	58	1160	0,580000		
240106	Terrebonne	F45	40	10	26	260	0,130000	0,118333	-0,926893
240106	Terrebonne	F45	40	10	21	210	0,105000		
240106	Terrebonne	F45	40	10	24	240	0,120000		
240106	Terrebonne	F45	60	50	16	32	0,016000	0,019667	-1,706269
240106	Terrebonne	F45	60	50	26	52	0,026000		
240106	Terrebonne	F45	60	50	17	34	0,017000		
240106	Terrebonne	F45	85	50	38	76	0,038000	0,032000	-1,494850
240106	Terrebonne	F45	85	50	32	64	0,032000		
240106	Terrebonne	F45	85	50	26	52	0,026000		
240106	Terrebonne	F45	110	100	14	14	0,007000	0,005167	-2,286790
240106	Terrebonne	F45	110	100	5	5	0,002500		
240106	Terrebonne	F45	110	100	12	12	0,006000		
120406	Terrebonne	B	0	1	39	3900	1,000000	1,000000	0,000000
120406	Terrebonne	B	0	1	39	3900	1,000000		
120406	Terrebonne	B	0	1	34	3400	1,000000		
120406	Terrebonne	B	20	5	46	920	0,246429	0,191071	-0,718804
120406	Terrebonne	B	20	5	32	640	0,171429		
120406	Terrebonne	B	20	5	29	580	0,155357		
120406	Terrebonne	B	40	10	11	110	0,029464	0,028571	-1,544068
120406	Terrebonne	B	40	10	11	110	0,029464		
120406	Terrebonne	B	40	10	10	100	0,026786		
120406	Terrebonne	B	60	50	14	28	0,007500	0,005714	-2,243038
120406	Terrebonne	B	60	50	4	8	0,002143		
120406	Terrebonne	B	60	50	14	28	0,007500		
120406	Terrebonne	B	80	100	47	47	0,012589	0,012054	-1,918884
120406	Terrebonne	B	80	100	37	37	0,009911		
120406	Terrebonne	B	80	100	51	51	0,013661		
120406	Terrebonne	B	100	100	3	3	0,000804	0,001161	-2,935275
120406	Terrebonne	B	100	100	4	4	0,001071		
120406	Terrebonne	B	100	100	6	6	0,001607		
120406	Terrebonne	NB	20	5	18	360	0,096429	0,137500	-0,861697
120406	Terrebonne	NB	20	5	31	620	0,166071		
120406	Terrebonne	NB	20	5	28	560	0,150000		
120406	Terrebonne	NB	40	10	24	240	0,064286	0,063393	-1,197960
120406	Terrebonne	NB	40	10	17	170	0,045536		

120406	Terrebonne	NB	40	10	30	300	0,080357		
120406	Terrebonne	NB	60	50	58	116	0,031071	0,028571	-1,544068
120406	Terrebonne	NB	60	50	29	58	0,015536		
120406	Terrebonne	NB	60	50	73	146	0,039107		
120406	Terrebonne	NB	80	100	34	34	0,009107	0,010446	-1,981032
120406	Terrebonne	NB	80	100	42	42	0,011250		
120406	Terrebonne	NB	80	100	41	41	0,010982		
120406	Terrebonne	NB	100	100	29	29	0,007768	0,008214	-2,085430
120406	Terrebonne	NB	100	100	28	28	0,007500		
120406	Terrebonne	NB	100	100	35	35	0,009375		
120406	Terrebonne	F8	0	10	7	70	1,000000	1,000000	0,000000
120406	Terrebonne	F8	0	10	23	230	1,000000		
120406	Terrebonne	F8	0	10	16	160	1,000000		
120406	Terrebonne	F8	10	50	17	34	0,221739	0,304348	-0,516630
120406	Terrebonne	F8	10	50	18	36	0,234783		
120406	Terrebonne	F8	10	50	35	70	0,456522		
120406	Terrebonne	F8	20	100	6	6	0,039130	0,071739	-1,144244
120406	Terrebonne	F8	20	100	14	14	0,091304		
120406	Terrebonne	F8	20	100	13	13	0,084783		
120406	Terrebonne	F8	30	100	4	4	0,026087	0,021739	-1,662758
120406	Terrebonne	F8	30	100	5	5	0,032609		
120406	Terrebonne	F8	30	100	1	1	0,006522		
180406	Terrebonne	B	0	1	18	1800	1,000000	1,000000	0,000000
180406	Terrebonne	B	0	1	19	1900	1,000000		
180406	Terrebonne	B	0	1	17	1700	1,000000		
180406	Terrebonne	B	20	5	13	260	0,144444	0,122222	-0,912850
180406	Terrebonne	B	20	5	8	160	0,088889		
180406	Terrebonne	B	20	5	12	240	0,133333		
180406	Terrebonne	B	40	20	12	60	0,033333	0,039815	-1,399955
180406	Terrebonne	B	40	20	8	40	0,022222		
180406	Terrebonne	B	40	20	23	115	0,063889		
180406	Terrebonne	B	60	50	8	16	0,008889	0,015556	-1,808114
180406	Terrebonne	B	60	50	16	32	0,017778		
180406	Terrebonne	B	60	50	18	36	0,020000		
180406	Terrebonne	B	80	100	7	7	0,003889	0,003519	-2,453640
180406	Terrebonne	B	80	100	7	7	0,003889		
180406	Terrebonne	B	80	100	5	5	0,002778		
180406	Terrebonne	B	100	100	3	3	0,001667	0,002407	-2,618450

180406	Terrebonne	B	100	100	7	7	0,003889		
180406	Terrebonne	B	100	100	3	3	0,001667		
180406	Terrebonne	NB	0	1	26	2600	1,000000	1,000000	0,000000
180406	Terrebonne	NB	0	1	18	1800	1,000000		
180406	Terrebonne	NB	0	1	22	2200	1,000000		
180406	Terrebonne	NB	20	5	27	540	0,300000	0,274074	-0,562132
180406	Terrebonne	NB	20	5	19	380	0,211111		
180406	Terrebonne	NB	20	5	28	560	0,311111		
180406	Terrebonne	NB	40	20	24	120	0,066667	0,075926	-1,119610
180406	Terrebonne	NB	40	20	26	130	0,072222		
180406	Terrebonne	NB	40	20	32	160	0,088889		
180406	Terrebonne	NB	60	50	51	102	0,056667	0,076667	-1,115393
180406	Terrebonne	NB	60	50	74	148	0,082222		
180406	Terrebonne	NB	60	50	82	164	0,091111		
180406	Terrebonne	NB	80	100	125	125	0,069444	0,064630	-1,189568
180406	Terrebonne	NB	80	100	120	120	0,066667		
180406	Terrebonne	NB	80	100	104	104	0,057778		
180406	Terrebonne	NB	100	100	32	32	0,017778	0,015000	-1,823909
180406	Terrebonne	NB	100	100	24	24	0,013333		
180406	Terrebonne	NB	100	100	25	25	0,013889		
180406	Terrebonne	F8	0	5	51	1020	1,000000	1,000000	0,000000
180406	Terrebonne	F8	0	5	35	700	1,000000		
180406	Terrebonne	F8	0	5	48	960	1,000000		
180406	Terrebonne	F8	10	10	30	300	0,335821	0,291045	-0,536040
180406	Terrebonne	F8	10	10	19	190	0,212687		
180406	Terrebonne	F8	10	10	29	290	0,324627		
180406	Terrebonne	F8	20	50	40	80	0,521739	0,530435	-0,275368
180406	Terrebonne	F8	20	50	36	72	0,469565		
180406	Terrebonne	F8	20	50	46	92	0,600000		
180406	Terrebonne	F8	40	100	7	7	0,045652	0,050000	-1,301030
180406	Terrebonne	F8	40	100	8	8	0,052174		
180406	Terrebonne	F8	40	100	8	8	0,052174		
291105	EU MI	B	0	1	590	59000	1,000000	1,000000	0,000000
291105	EU MI	B	0	1	295	29500	1,000000		
291105	EU MI	B	0	1	82	8200	1,000000		
291105	EU MI	B	20	10	155	1550	0,048087	0,027508	-1,560545
291105	EU MI	B	20	10	61	610	0,018925		
291105	EU MI	B	20	10	50	500	0,015512		

291105	EU MI	B	60	50	94	188	0,005832	0,006143	-2,211640
291105	EU MI	B	60	50	94	188	0,005832		
291105	EU MI	B	60	50	109	218	0,006763		
291105	EU MI	B	90	50	19	38	0,001179	0,001965	-2,706673
291105	EU MI	B	90	50	28	56	0,001737		
291105	EU MI	B	90	50	48	96	0,002978		
291105	EU MI	B	110	50	50	100	0,003102	0,002234	-2,650973
291105	EU MI	B	110	50	23	46	0,001427		
291105	EU MI	B	110	50	35	70	0,002172		
291105	EU MI	NB	0	1	590	59000	1,000000	1,000000	0,000000
291105	EU MI	NB	0	1	295	29500	1,000000		
291105	EU MI	NB	0	1	82	8200	1,000000		
291105	EU MI	NB	20	10	247	2470	0,076629	0,075595	-1,121509
291105	EU MI	NB	20	10	231	2310	0,071665		
291105	EU MI	NB	20	10	253	2530	0,078490		
291105	EU MI	NB	60	50	191	382	0,011851	0,015140	-1,819885
291105	EU MI	NB	60	50	297	594	0,018428		
291105	EU MI	NB	90	50	500	1000	0,031024	0,031024	-1,508305
291105	EU MI	NB	110	50	278	556	0,017249	0,012017	-1,920220
291105	EU MI	NB	110	50	206	412	0,012782		
291105	EU MI	NB	110	50	97	194	0,006019		
291105	EU MI	F8	0	5	13	260	1,000000	1,000000	0,000000
291105	EU MI	F8	0	5	10	200	1,000000		
291105	EU MI	F8	0	5	11	220	1,000000		
291105	EU MI	F8	20	10	3	30	0,132353	0,161765	-0,791116
291105	EU MI	F8	20	10	4	40	0,176471		
291105	EU MI	F8	20	10	4	40	0,176471		
291105	EU MI	F8	40	20	0,33333	1,66665	0,007353	0,007353	-2,133543
291105	EU MI	F8	40	20	0,33333	1,66665	0,007353		
291105	EU MI	F8	40	20	0,33333	1,66665	0,007353		
291105	EU MI	F8	60	50	1	2	0,008824	0,004902	-2,309632
291105	EU MI	F8	60	50	0,33333	0,66666	0,002941		
291105	EU MI	F8	60	50	0,33333	0,66666	0,002941		
291105	EU MI	F8	90	50	0,33333	0,66666	0,002941	0,002941	-2,531483
291105	EU MI	F8	90	50	0,33333	0,66666	0,002941		
291105	EU MI	F8	90	50	0,33333	0,66666	0,002941		
291105	EU MI	F8	110	50	0,33333	0,66666	0,002941	0,015686	-1,804480
291105	EU MI	F8	110	50	3	6	0,026471		

291105	EU MI	F8	110	50	2	4	0,017647		
291105	EU MI	F45	0	1	39	3900	1,000000	1,000000	0,000000
291105	EU MI	F45	0	1	27	2700	1,000000		
291105	EU MI	F45	0	1	37	3700	1,000000		
291105	EU MI	F45	20	5	107	2140	0,623301	0,640777	-0,193293
291105	EU MI	F45	20	5	115	2300	0,669903		
291105	EU MI	F45	20	5	108	2160	0,629126		
291105	EU MI	F45	40	20	136	680	0,198058	0,345631	-0,461387
291105	EU MI	F45	40	20	244	1220	0,355340		
291105	EU MI	F45	40	20	332	1660	0,483495		
291105	EU MI	F45	60	50	359	718	0,209126	0,178058	-0,749438
291105	EU MI	F45	60	50	193	386	0,112427		
291105	EU MI	F45	60	50	365	730	0,212621		
291105	EU MI	F45	90	50	134	268	0,078058	0,081748	-1,087525
291105	EU MI	F45	90	50	133	266	0,077476		
291105	EU MI	F45	90	50	154	308	0,089709		
291105	EU MI	F45	110	50	146	292	0,085049	0,086408	-1,063447
291105	EU MI	F45	110	50	133	266	0,077476		
291105	EU MI	F45	110	50	166	332	0,096699		
51205	EU MI	B	0	0,1	27	27000	1,000000	1,000000	0,000000
51205	EU MI	B	0	0,1	41	41000	1,000000		
51205	EU MI	B	0	0,1	6	6000	1,000000		
51205	EU MI	B	40	10	45	450	0,018243	0,018514	-1,732511
51205	EU MI	B	40	10	44	440	0,017838		
51205	EU MI	B	40	10	48	480	0,019459		
51205	EU MI	B	60	20	26	130	0,005270	0,006689	-2,174627
51205	EU MI	B	60	20	38	190	0,007703		
51205	EU MI	B	60	20	35	175	0,007095		
51205	EU MI	B	90	50	30	60	0,002432	0,002514	-2,599719
51205	EU MI	B	90	50	30	60	0,002432		
51205	EU MI	B	90	50	33	66	0,002676		
51205	EU MI	B	110	50	21	42	0,001703	0,002000	-2,698970
51205	EU MI	B	110	50	27	54	0,002189		
51205	EU MI	B	110	50	26	52	0,002108		
51205	EU MI	NB	0	0,1	27	27000	1,000000	1,000000	0,000000
51205	EU MI	NB	0	0,1	41	41000	1,000000		
51205	EU MI	NB	0	0,1	6	6000	1,000000		
51205	EU MI	NB	40	5	50	1000	0,040541	0,058919	-1,229745

51205	EU MI	NB	40	5	75	1500	0,060811		
51205	EU MI	NB	40	5	93	1860	0,075405		
51205	EU MI	NB	60	20	93	465	0,018851	0,022095	-1,655714
51205	EU MI	NB	60	20	109	545	0,022095		
51205	EU MI	NB	60	20	125	625	0,025338		
51205	EU MI	NB	90	50	260	520	0,021081	0,011486	-1,939813
51205	EU MI	NB	90	50	71	142	0,005757		
51205	EU MI	NB	90	50	94	188	0,007622		
51205	EU MI	NB	110	50	49	98	0,003973	0,014919	-1,826263
51205	EU MI	NB	110	50	118	236	0,009568		
51205	EU MI	NB	110	50	385	770	0,031216		
51205	EU MI	F8	0	10	28	280	1,000000	2,000000	0,301030
51205	EU MI	F8	0	10	41	410	1,000000		
51205	EU MI	F8	0	10	32	320	1,000000		
51205	EU MI	F8	10	50	150	300	0,891089	0,520792	-0,283336
51205	EU MI	F8	10	50	50	100	0,297030		
51205	EU MI	F8	10	50	63	126	0,374257		
51205	EU MI	F8	20	50	9	18	0,053465	0,067327	-1,171812
51205	EU MI	F8	20	50	15	30	0,089109		
51205	EU MI	F8	20	50	10	20	0,059406		
51205	EU MI	F8	30	50	3	6	0,017822	0,023762	-1,624110
51205	EU MI	F8	30	50	5	10	0,029703		
51205	EU MI	F8	30	50	4	8	0,023762		
51205	EU MI	F8	45	50	7	14	0,041584	0,020462	-1,689052
51205	EU MI	F8	45	50	0,3333	0,6666	0,001980		
51205	EU MI	F8	45	50	3	6	0,017822		
51205	EU MI	F8	60	50	1	2	0,005941	0,004620	-2,335321
51205	EU MI	F8	60	50	1	2	0,005941		
51205	EU MI	F8	60	50	0,3333	0,6666	0,001980		
51205	EU MI	F45	0	0,1	107	107000	1,000000	1,000000	0,000000
51205	EU MI	F45	0	0,1	75	75000	1,000000		
51205	EU MI	F45	0	0,1	125	125000	1,000000		
51205	EU MI	F45	20	1	50	5000	0,048860	0,030293	-1,518655
51205	EU MI	F45	20	1	24	2400	0,023453		
51205	EU MI	F45	20	1	19	1900	0,018567		
51205	EU MI	F45	40	5	52	1040	0,010163	0,015440	-1,811360
51205	EU MI	F45	40	5	40	800	0,007818		
51205	EU MI	F45	40	5	145	2900	0,028339		

51205	EU MI	F45	60	20	176	880	0,008599	0,007866	-2,104221
51205	EU MI	F45	60	20	227	1135	0,011091		
51205	EU MI	F45	60	20	80	400	0,003909		
51205	EU MI	F45	90	50	127	254	0,002482	0,002782	-2,555681
51205	EU MI	F45	90	50	195	390	0,003811		
51205	EU MI	F45	90	50	105	210	0,002052		
51205	EU MI	F45	110	50	146	292	0,002853	0,001837	-2,735859
51205	EU MI	F45	110	50	59	118	0,001153		
51205	EU MI	F45	110	50	77	154	0,001505		

**ANNEXE E : ARTICLE DE SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE PUBLIÉ DANS
*IUVA NEWS***

CHEVREFILS, G., CARON, É., WRIGHT, H., SAKAMOTO, G., PAYMENT, P.,
BARBEAU, B. et al. 2006. UV dose required to achieve incremental log inactivation
of bacteria, protozoa and viruses. *IUVA News*. 8 : 1. 38-45.

UV Dose Required to Achieve Incremental Log Inactivation of Bacteria, Protozoa and Viruses¹

Revised and Expanded by:

Gabriel Chevretils, B.Ing,² and **Éric Caron**, B.Sc.²

With earlier (1999) Contributions by:

Harold Wright³ and **Gail Sakamoto**³

And with Peer Review by:

Pierre Payment,⁴ **Benoit Barbeau**⁵ and **Bill Cairns**^{3*}

1. This compilation has been prepared for Trojan Technologies Inc. and is published here as a public service to the UV community.
2. Chaire de recherche en Eau Potable, École Polytechnique de Montreal
3. Trojan Technologies Inc., London, ON, Canada
4. INRS- Institut Armand-Frappier
5. École Polytechnique de Montreal

* Corresponding Author: bcairns@trojanuv.com

BRIEF DESCRIPTION AND SELECTION CRITERIA FOR CONTENT OF THE TABLES

Tables 1-4 present a summary of published data on the Ultraviolet (UV) dose-response of various organisms that are pathogens, indicators, or organisms encountered in the application, testing of performance, and validation of UV disinfection technologies. The tables reflect the state of knowledge, but include the variation in technique and biological response that currently exists in the absence of standardized protocols. Users of the data for their own purposes are advised to exercise critical judgment in how they use the data.

In most cases, the data are generated from low pressure (LP) monochromatic mercury arc lamp sources for which the lamp fluence rate (intensity) can be measured empirically and multiplied by exposure time to obtain a dose. Earlier data do not always contain the correction factors that are now considered standard practice (Bolton and Linden 2003). Some data are from polychromatic medium pressure (MP) mercury arc lamps, and in some cases both lamp types are used. In a few cases, filtered polychromatic UV light is used to achieve a narrow band of irradiation around 254 nm. These studies are also designated as LP.

None of the data incorporate any impact of photorepair processes. Only the response to the inactivating UV dose is documented. The references from which the data are abstracted must be carefully read to understand how the reported doses are calculated and what the assumptions and procedures are in the calculation.

At the time this table was being prepared, a parallel initiative (Hijnen et al. 2006) was ongoing and is recommended to the reader.

It is the intention of Trojan Technologies, École Polytechnique de Montreal and INRS- Institut Armand-Frappier to keep this table dynamic, with periodic updates. Recommendations for inclusion in the tables, along with the reference source, can be sent to:

Dr. Bill Cairns, Chief Scientist
Trojan Technologies Inc
3020 Gore Road
London, Ontario, Canada N5V 4T7
e-mail: bcairns@trojanuv.com

The selection criteria for inclusion are recommended as follows:

1. Data must be already published in a peer-reviewed journal or other peer-reviewed publication media;
2. The dose-response should be empirically determined in the laboratory with the assistance of a collimated beam apparatus;
3. Ideally, the fluence rate (intensity) should be measured with a recently calibrated radiometer and when this has not been done, a well-characterized organism should be run as a reference to provide a comparison with the literature values to substantiate that the radiometer is within calibration.
4. The publication from which the data is abstracted should describe the experimental procedures including collimated beam procedures, dose calculation procedures along with any assumptions made, organism culturing procedures, enumeration and preparation for experiments.
5. Responses should be determined over a range of doses; that is, a complete dose-response curve is preferred to a single dose-response measurement.

Table 1. UV Doses for Multiple Log Reductions for Various Spores

Spore	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) for a given Log Reduction without photo-reactivation							Reference
		1	2	3	4	5	6	7	
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	N/A	36	48.6	61	78				Chang et al. 1985
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	LP	24	35	47	79				Mamane-Gravetz and Linden 2004
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	LP	22	38	>50					Sommer et al. 1998
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC6633	LP	20	39	60	81				Sommer et al. 1999
<i>Bacillus subtilis</i> WN626	LP	0.4	0.9	1.3	2				Marshall et al., 2003

Table 2. UV Doses for Multiple Log Reductions for Various Bacteria

Bacterium	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) for a given Log Reduction without photo-reactivation							Reference
		1	2	3	4	5	6	7	
<i>Aeromonas hydrophila</i> ATCC7966	LP	1.1	2.6	3.9	5	6.7	8.6		Wilson et al. 1992
<i>Aeromonas salmonicida</i>	LP	1.5	2.7	3.1	5.9				Liljed and Landfald 1996
<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 43429	LP	1.6	3.4	4	4.6	5.9			Wilson et al. 1992
<i>Citrobacter diversus</i>	LP	5	7	9	11.5	13			Giese and Darby 2000
<i>Citrobacter freundii</i>	LP	5	9	13					Giese and Darby 2000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	N/A	2.5	3	3.5	5	10	15		Harris et al. 1987
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	N/A	3	4.8	6.7	8.4	10.5			Chang et al. 1985
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	LP	<5	5.5	6.5	7.7	10			Zimmer et al. 2002
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	MP	<3	<3	<3	<3	8			Zimmer et al. 2002
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	LP	7	8	9	11	12			Hoyer 1998
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	LP	3.5	4.7	5.5	6.5	7.5	9.6		Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11229	LP	6	6.5	7	8	9	10		Sommer et al. 1998
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11303	LP	4	6	9	10	13	15	19	Wu et al. 2005
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	LP	6	6.5	7	8	9	10		Sommer et al. 1998
<i>Escherichia coli</i> C	LP	2	3	4	5.6	6.5	8	10.7	Otaki et al. 2003
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	LP	1.5	3	4.5	6				Tosa and Hirata 1999
<i>Escherichia coli</i> O157:H7	LP	<2	<2	2.5	4	8	17		Yaun et al. 2003
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 CCUG 29193	LP	3.5	4.7	5.5	7				Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 CCUG 29197	LP	2.5	3	4.6	5	5.5			Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 CCUG 29199	LP	0.4	0.7	1	1.1	1.3	1.4		Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 43894	LP	1.5	2.8	4.1	5.6	6.8			Wilson et al. 1992
<i>Escherichia coli</i> O25:K98:NM	LP	5	7.5	9	10	11.5			Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> O26	LP	5.4	8	10.5	12.8				Tosa and Hirata 1999
<i>Escherichia coli</i> O50:H7	LP	2.5	3	3.5	4.5	5	6		Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> O78:H11	LP	4	5	5.5	6	7			Sommer et al. 2000
<i>Escherichia coli</i> K-12 IFO3301	LP & MP	2	4	6	7	8.5			Oguma et al. 2002
<i>Escherichia coli</i> K-12 IFO3301	LP & MP	2.2	4.4	6.7	8.9	11.0			Oguma et al. 2004
<i>Escherichia coli</i> K-12 IFO3301	LP	1.5	2	3.5	4.2	5.5	6.2		Otaki et al. 2003
<i>Escherichia coli</i> Wild type	LP	4.4	6.2	7.3	8.1	9.2			Sommer et al. 1998

Table 2. (continued)

Bacterium	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) for a given Log Reduction without photo-reactivation							Reference
		1	2	3	4	5	6	7	
<i>Halobacterium elongata</i> ATCC33173	LP	0.4	0.7	1					Martin et al. 2000
<i>Halobacterium salinarum</i> ATCC43214	LP	12	15	17.5	20				Martin et al. 2000
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	LP	12	15	17.5	20				Giese and Darby 2000
<i>Klebsiella terrigena</i> ATCC33257	LP	4.6	6.7	8.9	11				Wilson et al. 1992
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC 43660	LP	3.1	5	6.9	9.4				Wilson et al. 1992
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC33152	LP	1.6	3.2	4.8	6.4	8.0			Oguma et al. 2004
<i>Legionella pneumophila</i> ATCC33152	MP	1.9	3.8	5.8	7.7	9.6			Oguma et al. 2004
<i>Pseudomonas stutzeri</i> RB2256	UVB	100	150	195	230				Joux et al. 1999
	UVB	175	>300						Joux et al. 1999
<i>Salmonella</i> spp.	LP	<2	2	3.5	7	14	29		Youn et al. 2003
<i>Salmonella anatum</i> (from human feces)	N/A	7.5	12	15					Tosa and Hirata 1998
<i>Salmonella derby</i> (from human feces)	N/A	3.5	7.5						Tosa and Hirata 1998
<i>Salmonella enteritidis</i> (from human feces)	N/A	5	7	9	10				Tosa and Hirata 1998
<i>Salmonella infantis</i> (from human feces)	N/A	2	4	6					Tosa and Hirata 1998
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 19430	LP	1.8	4.8	6.4	8.2				Wilson et al. 1992
<i>Salmonella typhi</i> ATCC 6539	N/A	2.7	4.1	5.5	7.1	8.5			Chang et al. 1985
<i>Salmonella typhimurium</i> (from human feces)	N/A	2	3.5	5	9				Tosa and Hirata 1998
<i>Salmonella typhimurium</i> (from human feces)	N/A	2	3.5	5	9				Tosa and Hirata 1998
<i>Salmonella typhimurium</i> (in act. sludge)	LP	3	11.5	22	50				Maya et al. 2003
<i>Salmonella typhimurium</i>	UVB	50	100	175	210	250			Joux et al. 1999
<i>Shigella dysenteriae</i> ATCC29027	LP	0.5	1.2	2	3	4	5.1		Wilson et al. 1992
<i>Shigella sonnei</i> ATCC9290	N/A	3.2	4.9	6.5	8.2				Chang et al. 1985
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC25923	N/A	3.9	5.4	6.5	10.4				Chang et al. 1985
<i>Streptococcus faecalis</i> ATCC29212	N/A	6.6	8.8	9.9	11.2				Chang et al. 1985
<i>Streptococcus faecalis</i> (secondary effluent)	N/A	5.5	6.5	8	9	12			Harris et al. 1987
<i>Vibrio anguillarum</i>	LP	0.5	1.2	1.5	2				Lilved and Landfald 1996
<i>Vibrio cholerae</i> ATCC25872	LP	0.8	1.4	2.2	2.9	3.6	4.3		Wilson et al. 1992
<i>Vibrio natriegens</i>	UVB	37.5	75	100	130	150			Joux et al. 1999
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC27729	LP	1.7	2.8	3.7	4.6				Wilson et al. 1992
<i>Yersinia ruckeri</i>	LP	1	2	3	5				Lilved and Landfald 1996

Table 3. UV Doses for Multiple Log Reductions for Various Protozoa

Protozoan	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) for a given Log Reduction without photo-reactivation							Reference
		1	2	3	4	5	6	7	
<i>Cryptosporidium hominis</i>	LP & MP	3	5.8						Johnson et al. 2005
<i>Cryptosporidium parvum</i> , oocysts, tissue culture assay	N/A	1.3	2.3	3.2					Shin et al. 2000
<i>Cryptosporidium parvum</i>	LP & MP	2.4	<5	5.2	9.5				Craig et al. 2001
<i>Cryptosporidium parvum</i>	MP	<5	<5	<5	~6				Amoah et al. 2005
<i>Cryptosporidium parvum</i>	MP	<10	<10	<10					Belosevic et al. 2001
<i>Cryptosporidium parvum</i>	LP	1	2	<5					Shin et al. 2001
<i>Cryptosporidium parvum</i>	MP	1	2	2.9	4				Bukhari et al. 2004
<i>Cryptosporidium parvum</i>	LP	<2	<2	<2	<4	<10			Clancy et al. 2004
<i>Cryptosporidium parvum</i>	MP	<3	<3	3-9	<11				Clancy et al. 2000
<i>Cryptosporidium parvum</i>	LP	<3	<3	3-6	<16				Clancy et al. 2000
<i>Cryptosporidium parvum</i>	LP	0.5	1	1.4	2.2				Morita et al. 2002
<i>Cryptosporidium parvum</i>	LP	2	<3	<3					Zimmer et al. 2003
<i>Cryptosporidium parvum</i>	MP	<1	<1	<1					Zimmer et al. 2003
<i>Encephalitozoon cuniculi</i> , microsporidia	LP	4	9	13					Marshall et al. 2003
<i>Encephalitozoon hellem</i> , microsporidia	LP	8	12	18					Marshall et al. 2003
<i>Encephalitozoon intestinalis</i> , microsporidia	LP & MP	<3	3	<6	6				Huffman et al. 2002
<i>Encephalitozoon intestinalis</i> , microsporidia	LP	3	5	6					Marshall et al. 2003
<i>Giardia lamblia</i> , gerbil infectivity assay	LP	<0.5	<0.5	<0.5	<1				Linden et al. 2002b
<i>Giardia lamblia</i>	LP	<10	~10	<20					Campbell et al. 2002
<i>Giardia lamblia</i>	LP	<2	<2	<4					Mofidi et al. 2002
<i>Giardia lamblia</i> , excystation assay	N/A	> 63							Rice and Hoff 1981
<i>Giardia lamblia</i> , excystation assay	N/A	40	180						Karanis et al. 1992
<i>Giardia muris</i> , excystation assay	N/A	77	110						Carlson et al. 1985
<i>G. muris</i> , cysts, mouse infectivity assay	N/A	<2	<6	10 + tailing					Craig et al. 2000
<i>Giardia muris</i>	MP	1	4.5	28 + tailing					Craig et al. 2000
<i>Giardia muris</i>	MP	<10	<10	<25	~60				Belosevic et al. 2001
<i>Giardia muris</i>	LP	<1.9	<1.9	-2	-2.3				Hayes et al. 2003
<i>Giardia muris</i>	LP	<2	<2	<4					Mofidi et al. 2002
<i>G. muris</i> , cysts	MP	<5	<5	5					Amoah et al. 2005

Table 4. UV Doses for Multiple Log Reductions for Various Viruses

Virus	Host	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) per Log Reduction						Reference
			1	2	3	4	5	6	
PRD-1 (Phage)	<i>S. typhimurium</i> LT2	N/A	9.9	17.2	23.5	30.1			Meng and Gerba 1996
B40-8 (Phage)	<i>B. fragilis</i>	LP	11	17	23	29	35	41	Sommer et al. 2001
B40-8 (Phage)	<i>B. fragilis</i> HSP-40	LP	12	18	23	28			Sommer et al. 1998
MS2 (Phage)	<i>Salmonella typhimurium</i> WG49	N/A	16.3	35	57	83	114	152	Nieuwstad and Havelaar 1994

Table 4. (continued)

Virus	Host	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) per Log Reduction						Reference
			1	2	3	4	5	6	
MS2 DSM 5694 (Phage)	<i>E. coli</i> NCIB 9481	N/A	4	16	38	68	110		Wiedenmann et al. 1993
MS2 ATCC 15977-B1 (Phage)	<i>E. coli</i> ATCC 15977-B1	LP	15.9	34	52	71	90	109	Wilson et al. 1992
MS2 NCIMB 10108 (Phage)	<i>Salmonella typhimurium</i> WG49	N/A	12.1	30.1					Tree et al. 1997
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> K-12 Hfr	LP	21	36					Sommer et al. 1998
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> CR63	N/A	16.9	33.8					Rauth 1965
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> 15977	N/A	13.4	28.6	44.8	61.9	80.1		Meng and Gerba 1996
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> C3000	N/A	35						Battigelli et al. 1993
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> ATCC 15597	N/A	19	40	61				Oppenheimer et al. 1993
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> C3000	LP	20	42	69	92			Batch et al. 2004
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> ATCC 15597	LP	20	42	70	98	133		Lazarova and Savoye 2004
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> ATCC 15977	LP	20	50	85	120			Thurston-Enriquez et al., 2003
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> HS(pFamp)R	LP		45	75	100	125	155	Thompson et al. 2003
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> C3000	LP	20	42	68	90			Linden et al. 2002a
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> K-12	LP	18.5	36	55				Sommer et al. 2001
MS2 (Phage)	<i>E. coli</i> NCIMB 9481	N/A	14						Tree et al. 2005
PHI X 174 (Phage)	<i>E. coli</i> WG5	LP	2.2	5.3	7.3	10.5			Sommer et al. 1998
PHI X 174 (Phage)	<i>E. coli</i> C3000	N/A	2.1	4.2	6.4	8.5	10.6	12.7	Battigelli et al. 1993
PHI X 174 (Phage)	<i>E. coli</i> ATCC15597	N/A	4	8	12				Oppenheimer et al. 1993
PHI X 174 (Phage)	<i>E. coli</i> WG 5	LP	3	5	7.5	10	12.5	15	Sommer et al. 2001
PHI X 174 (Phage)	<i>E. coli</i> ATCC 13706	LP	2	3.5	5	7			Giese and Darby 2000
Staphylococcus aureus phage A 994 (Phage)	<i>Staphylococcus aureus</i> 994	LP	8	17	25	36	47		Sommer et al. 1989
Calicivirus canine	MDCK cell line	LP	7	15	22	30	36		Husman et al. 2004
Calicivirus feline	CRFK cell line	LP	7	16	25				Husman et al. 2004
Calicivirus feline	CRFK cell line	N/A	4	9	14				Tree et al. 2005
Calicivirus feline	CRFK cell line	LP	5	15	23	30	39		Thurston-Enriquez et al. 2003
Adenovirus type 2	A549 cell line	LP	20	45	80	110			Shin et al. 2005
Adenovirus type 2	Human lung cell line	LP	35	55	75	100			Ballester and Malley 2004
Adenovirus type 2	PLC / PRF / 5 cell line	LP	40	78	119	160	195	235	Gerba et al. 2002
Adenovirus type 15	A549 cell line (ATCC CCL-185)	LP	40	80	122	165	210		Thompson et al. 2003
Adenovirus type 40	PLC / PRF / 5 cell line	LP	55	105	155				Thurston-Enriquez et al. 2003
Adenovirus type 40	PLC / PRF / 5 cell line	LP	30	ND	ND	124			Meng and Gerba 1996
Adenovirus type 41	PLC / PRF / 5 cell line	LP	23.6	ND	ND	111.8			Meng and Gerba 1996
Poliovirus Type 1 ATCC Mahoney	N/A	N/A	6	14	23	30			Harris et al. 1987
Poliovirus Type 1 LSc2ab ()	MA104 cell	N/A	5.6	11	16.5	21.5			Chang et al. 1985

Table 4. (continued)

Virus	Host	Lamp Type	UV Dose (Fluence) (mJ/cm ²) per Log Reduction						Reference
			1	2	3	4	5	6	
Poliovirus Type 1 LSc2ab	BGM cell	LP	5.7	11	17.6	23.3	32	41	Wilson et al. 1992
Poliovirus 1	BGM cell line	N/A	5	11	18	27			Tree et al. 2005
Poliovirus 1	CaCo2 cell-line (ATCC HTB37)	LP	7	17	28	37			Thompson et al. 2003
Poliovirus 1	BGM cell line	LP	8	15.5	23	31			Gerba et al. 2002
Poliovirus Type Mahoney	Monkey kidney cell line Vero	LP	3	7	14	40			Sommer et al. 1989
Coxsackievirus B5	Buffalo Green Monkey cell line	N/A	6.9	13.7	20.6				Battigelli et al. 1993
Coxsackievirus B3	BGM cell line	LP	8	16	24.5	32.5			Gerba et al. 2002
Coxsackievirus B5	BGM cell line	LP	9.5	18	27	36			Gerba et al. 2002
Reovirus-3	Mouse L-60	N/A	11.2	22.4					Rauth 1965
Reovirus Type 1 Lang strain	N/A	N/A	16	36					Harris et al. 1987
Rotavirus SA-11	Monkey kidney cell line MA 104	LP	8	15	27	38			Sommer et al. 1989
Rotavirus SA-11	MA-104 cell line	N/A	7.6	15.3	23				Battigelli et al. 1993
Rotavirus SA-11	MA-104 cell line	N/A	7.1	14.8	25				Chang et al. 1985
Rotavirus SA-11	MA-104 cell line	LP	9.1	19	26	36	48		Wilson et al. 1992
Rotavirus	MA104 cells	LP	20	80	140	200			Caballero et al. 2004
Hepatitis A HM175	FRhK-4 cell	LP	5.1	13.7	22	29.6			Wilson et al. 1992
Hepatitis A	HAV/HIS/GBM	N/A	5.5	9.8	15	21			Wiedenmann et al. 1993
Hepatitis A HM175	FRhK-4 cell	N/A	4.1	8.2	12.3	16.4			Battigelli et al. 1993
Echovirus I	BGM cell line	LP	8	16.5	25	33			Gerba et al. 2002
Echovirus II	BGM cell line	LP	7	14	20.5	28			Gerba et al. 2002

REFERENCES

- Amoah, K., Craik, S., Smith, D.W. and Belosevic, M. 2005. Inactivation of *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts by ultraviolet light in the presence of natural particulate matter, *AQUA, J. Wat. Supply* 54(3): 165-178.
- Ballester, N.A. and Malley, J.P. 2004. Sequential disinfection of adenovirus type 2 with UV-chlorine-chloramine, *J. Amer. Wat. Works Assoc.*, 96(10): 97-102.
- Batch, L.F., Schulz, C.R. and Linden, K.G. 2004. Evaluating water quality effects on UV disinfection of MS2 coliphage, *J. Amer. Wat. Works Assoc.*, 96(7): 75-87.
- Battigelli, D.A., Sobsey, M.D. and Lobe, D.C. 1993. The inactivation of Hepatitis A virus and other model viruses by UV irradiation, *Wat. Sci. Tech.*, 27(3-4): 339-342.
- Belosevic, M., Craik, S.A., Stafford, J.L. Neumann, N.E., Kruithof, J. and Smith, D.W. 2001. Studies on the resistance/reaction of *Giardia muris* cysts and *C. parvum* oocysts exposed to medium-pressure ultraviolet radiation, *FEMS Microbiol. Lett.*, 204(1): 197-204.
- Bolton J.R. and Linden, K.G. 2003. Standardization of methods for fluence (UV Dose) determination in bench-scale UV experiments. *J. Environ. Eng.* 129(3): 209-216.
- Bukhari, Z., Abrams, F. and LeChevallier, M. 2004. Using ultraviolet light for disinfection of finished water, *Water Sci. Tech.*, 50(1): 173-178.
- Caballero, S., Abad, F.X., Loisy, F., Le Guyader, F.S., Cohen, J., Pinto, R.M. and Bosch, A. 2004. Rotavirus virus-like particles as surrogates in environmental persistence and inactivation studies, *Appl. Env. Microbiol.* 70(7): 3904-3909.
- Campbell, A.T. and Wallis, P. 2002. The effect of UV irradiation on human-derived *Giardia lamblia* cysts, *Wat. Res.*, 36(4): 963-969.
- Carlson, D.A., Seabloom, R.V., DeWalle, F.B., Wetzler, T.F., Engeset, J., Butler, R., Wangsuphachart, S. and Wang, S. 1985. Ultraviolet disinfection of water for small water supplies. US EPA Report No. EPA/600/52-85/092.
- Chang, J.C.H., Osofi, S.F., Lobe, D.C., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Qualls, R.G. and Johnson, J.D. 1985. UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms, *Appl. Environ. Microbiol.*, 49(6): 1361-1365.

- Clancy, J.L., Bukhari, Z., Hargy, T.M., Bolton, J.R., Dussert, B.W. and Marshall, M.M. 2000. Using UV to inactivate *Cryptosporidium* – Even extremely low dosages of ultraviolet light can be highly effective for inactivating *Cryptosporidium* oocysts, *J. Amer. Wat. Works Assoc.*, 92(9): 97-104.
- Clancy, J.L., Marshall, M.M., Hargy, T.M. and Korich, D.G. 2004. Susceptibility of five strains of *Cryptosporidium parvum* oocysts to UV light, *J. Amer. Wat. Works Assoc.*, 96(3), 84-93.
- Craik, S.A., Finch, G.R., Bolton, J.R. and Belosevic, M. 2000. Inactivation of *Giardia muris* cysts using medium-pressure ultraviolet radiation in filtered water, *Wat. Res.*, 34(18): 4325-4332.
- Craik, S.A., Weldon, D., Finch, G.R., Bolton, J.R. and Belosevic, M. 2001. Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium- and low-pressure ultraviolet radiation, *Wat. Res.*, 35(6): 1387-1398.
- Gerba, C.P., Gramos, D.M. and Nwachuku, N. 2002. Comparative inactivation of enteroviruses and adenovirus 2 by UV light, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(10): 5167-5169.
- Giese, N. and Darby, J. 2000. Sensitivity of microorganisms to different wavelengths of UV light: implications on modeling of medium pressure UV systems, *Wat. Res.*, 34(16): 4007-4013.
- Harris, G.D., Adams, V.D., Sorensen, D.L. and Curtis, M.S. 1987. Ultraviolet inactivation of selected bacteria and viruses with photoreactivation of the bacteria, *Wat. Res.*, 21(6): 687-692.
- Hayes, S.L., Rice, E.W., Ware, M.W. and Schaefer III, F.W. 2003. Low pressure ultraviolet studies for inactivation of *Giardia muris* cysts, *J. Appl. Microbiol.*, 94(1): 54-59.
- Hijnen, W.A.M., Beerendonk, E.F. and Medema, G.J. 2006. Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water; a review, *Wat. Res.*, 40(1): 3-22.
- Hoyer, O. 1998. Testing performance and monitoring of UV systems for drinking water disinfection, *Wat. Supply*, 16(1-2): 424-429.
- Huffman, D.E., Gennaccaro, A., Rose, J.B. and Dussert, B.W. 2002. Low- and medium-pressure UV inactivation of microsporidia *Encephalitozoon intestinalis*, *Wat. Res.*, 36(12): 3161-3164.
- Husman, A.M.D., Bijkerk, P., Lodder, W., Van den Berg, H., Pribil, W., Cabaj, A., Gehringer, P., Sommer, R. and Duizer, E. 2004. Calicivirus inactivation by nonionizing 253.7-nanometer-wavelength (UV) and ionizing (Gamma) radiation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(9): 5089-5093.
- Johnson, A.M., Linden, K., Ciociola, K.M., De Leon, R., Widmer, G. and Rochelle, P.A. 2005. UV inactivation of *Cryptosporidium hominis* as measured in cell culture, *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(5): 2800-2802.
- Joux, F., Jeffrey, W.H., Lebaron, P. and Mitchell, D. L. 1999. Marine bacterial isolates display diverse responses to UV-B radiation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 65(9): 3820-3827.
- Karanis, P., Maier, W.A., Seitz, H.M. and Schoenen, D. 1992. UV sensitivity of protozoan parasites, *Aqua*, 41: 95-100.
- Lazarova, V. and Savoye, P. 2004. Technical and sanitary aspect of wastewater disinfection by ultraviolet irradiation for landscape irrigation, *Wat. Sci. Technol.*, 50(2): 203-209.
- Lilved, H. and Landfald, B. 1996. Influence of liquid holding recovery and photoreactivation on survival of ultraviolet-irradiated fish pathogenic bacteria, *Wat. Res.*, 30(5): 1109-1114.
- Linden, K.G., Batch, L. and Schulz, C. 2002a. UV disinfection of filtered water supplies: water quality impacts on MS2 dose-response curves, *Proceedings Amer. Wat. Works Assoc. Annu. Conf.*, Amer. Wat. Works Assoc., Denver, CO.
- Linden, K.G., Shin, G.-A., Faubert, G., Cairns, W. and Sobsey, M.D. 2002b. UV disinfection of *Giardia lamblia* cysts in water, *Environ. Sci. Technol.*, 36(11): 2519-2522.
- Mamane-Gravetz, H. and Linden, K.G. 2004. UV disinfection of indigenous aerobic spores: Implications for UV reactor validation in unfiltered waters, *Wat. Res.*, 38(12): 2898-2906.
- Marshall, M.M., Hayes, S., Moffett, J., Sterling, C.R. and Nicholson, W.L. 2003. Comparison of UV inactivation of three *Encephalitozoon* species with that of spores of two DNA repair-deficient *Bacillus subtilis* biosimetry strains, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(1): 683-685.
- Martin, E.L., Reinhardt, R.L., Baum, L.L., Becker, M.R., Shaffer, J.J. and Kokjohn, T.A. 2000. The effects of ultraviolet radiation on the moderate halophile *Halomonas elongata* and the extreme halophile *Halobacterium salinarum*, *Can. J. Microbiol.*, 46(2): 180-187.
- Maya, C., Beltran, N., Jimenez, B. and Bonilla, P. 2003. Evaluation of the UV disinfection process in bacteria and amoebic amoebae inactivation, *Wat. Sci. Technol.*, 47(4): 285-291.
- Meng, Q.S. and Gerba, C.P. 1996. Comparative inactivation of enteric adenoviruses, poliovirus and coliphages by ultraviolet irradiation, *Wat. Res.*, 30(11): 2665-2668.
- Mofidi, A.A., Meyer, E.A., Wallis, P.M., Chou, C.I., Meyer, B.P., Ramalingam, S. and Coffey, B.M. 2002. The effect of UV light on the inactivation of *Giardia lamblia* and *Giardia muris* cysts as determined by animal infectivity assay, *Wat. Res.*, 36(8): 2098-2108.
- Morita, S., Namikoshi, A., Hirata, T., Oguma, K., Katayama, H., Ohgaki, S., Motoyama, N. and Fujiwara, M. 2002. Efficacy of UV irradiation in inactivating *C. parvum* oocysts, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(11): 5387-5393.
- Nieuwstad, T.J. and Havelaar, A.H. 1994. The kinetics of batch ultraviolet inactivation of bacteriophage MS2 and microbiological calibration of an ultraviolet pilot plant, *J. Environ. Sci. Health*, A29(9): 1993-2007.
- Oguma, K., Katayama, H. and Ohgaki, S. 2002. Photoreactivation of *E. coli* after low- or medium-pressure UV disinfection determined by an endonuclease sensitive site assay, *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(12): 6029-6035.
- Oguma, K., Katayama, H. and Ohgaki, S. 2004. Photoreactivation of *Legionella pneumophila* after inactivation by low- or medium-pressure ultraviolet lamp, *Wat. Res.*, 38(11): 2757-2763.
- Oppenheimer, J.A., Hoagland, J.E., Laine, J.-M., Jacangelo, J.G. and Bhamrah, A. 1993. Microbial inactivation and characterization of toxicity and by-products occurring in reclaimed wastewater disinfected with UV radiation, *Conf. on Planning, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems*, Whippany, NJ, May 23-25, 1993, *Wat. Environ. Fed.*, Alexandria, VA.

- Otaki, M., Okuda, A., Tajima, K., Iwasaki, T., Kinoshita, S. and Ohgaki, S. 2003. Inactivation differences of microorganisms by low pressure UV and pulsed xenon lamps, *Wat. Sci. Technol.*, 47(3): 185-190.
- Rauth, A.M. 1965. The physical state of viral nucleic acid and the sensitivity of viruses to ultraviolet light, *Biophys. J.*, 5: 257-273.
- Rice, E.W. and Hoff, J.C. 1981. Inactivation of *Giardia lamblia* cysts by ultraviolet irradiation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 42(3): 546-547.
- Shin, G.-A., Linden, K.G. and Sobsey, M.D. 2000. Comparative inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts and coliphage MS2 by monochromatic UV radiation, *Proceedings of Disinfection 2000: Disinfection of Wastes in the New Millennium*, New Orleans, Water Environment Federation, Alexandria, VA.
- Shin, G.-A., Linden, K.G., Arrowood, M.J. and Sobsey, M.D. 2001. Low-pressure UV inactivation and DNA repair potential of *C. parvum* oocysts, *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(7): 3029-3032.
- Shin, G.A., Linden, K.G. and Sobsey, M.D. 2005. Low pressure ultraviolet inactivation of pathogenic enteric viruses and bacteriophages, *J. Environ. Engr. Sci.*, 4: S7-S11.
- Sommer, R., Weber, G., Cabaj, A., Wekerle, J., Keck, G., and Schaubberger, G. 1989. UV inactivation of microorganisms in water. *Zbl. Hyg.* 189: 214-224.
- Sommer, R., Haider, T., Cabaj, A., Pribil, W. and Lhotsky, M. 1998. Time dose reciprocity in UV disinfection of water, *Water Sci. Technol.*, 38(12): 145-150.
- Sommer, R., Cabaj, A., Sandu, T. and Lhotsky, M. 1999. Measurement of UV radiation using suspensions of microorganisms, *J. Photochem. Photobiol.*, 53(1-3): 1-5.
- Sommer, R., Lhotsky, M., Haider, T. and Cabaj, A. 2000. UV inactivation, liquid-holding recovery, and photoreactivation of *E. coli* O157 and other pathogenic *E. coli* strains in water, *J. Food Protection*, 63(8): 1015-1020.
- Sommer, R., Pribil, W., Appelt, S., Gehringer, P., Eschweiler, H., Leth, H., Cabaj, A. and Haider, T. 2001. Inactivation of bacteriophages in water by means of non-ionizing (UV-253.7 nm) and ionizing (gamma) radiation: A comparative approach, *Wat. Res.*, 35(13): 3109-3116.
- Thurston-Enriquez, J.A., Haas, C.N., Jacangelo, J., Riley, K. and Gerba, C.P. 2003. Inactivation of feline calicivirus and adenovirus type 40 by UV radiation, *Appl. Environ. Microbiol.*, 69(1): 577-582.
- Thompson, S.S., Jackson, J.L., Suva-Castillo, M., Yanko, W.A., Jack, Z.E., Kuo, J., Chen, C.L., Williams, F.P. and Schnurr, D.P. 2003. Detection of infectious human adenoviruses in tertiary-treated and ultraviolet-disinfected wastewater, *Wat. Environ. Res.*, 75(2): 163-170.
- Tosa, K. and Hirata, T. 1998. HRWM-39: Photoreactivation of *Salmonella* following UV disinfection, *IAWQ 19th Biennial International Conference*, Vol. 10, Health-Related Water Microbiology.
- Tosa, K. and Hirata, T. 1999. Photoreactivation of enterohemorrhagic *E. coli* following UV disinfection, *Wat. Res.*, 33(2): 361-366.
- Tree, J.A., Adams, M.R. and Lees, D.N. 1997. Virus inactivation during disinfection of wastewater by chlorination and UV irradiation and the efficacy of F+ bacteriophage as a 'viral indicator', *Wat. Sci. Technol.*, 35(11-12): 227-232.
- Tree, J.A., Adams, M.R. and Lees, D.N. 2005. Disinfection of feline calicivirus (a surrogate for Norovirus) in wastewaters, *J. Appl. Microbiol.*, 98: 155-162.
- Wiedenmann, A., Fischer, B., Straub, U., Wang, C.-H., Flehmig, B. and Schoenen, D. 1993. Disinfection of Hepatitis A virus and MS-2 coliphage in water by ultraviolet irradiation: Comparison of UV-susceptibility, *Wat. Sci. Tech.*, 27(3-4): 335-338.
- Wilson, B.R., Roessler, P.F., Van Dellen, E., Abbaszadegan, M. and Gerba, C.P. 1992. Coliphage MS-2 as a UV water disinfection efficacy test surrogate for bacterial and viral pathogens, *Proceedings, Water Quality Technology Conference*, Nov 15-19, 1992, Toronto, Canada, pp. 219-235, Amer. Wat. Works Assoc., Denver, CO.
- Wu, Y., Clevenger, T. and Deng, B. 2005. Impacts of goethite particles on UV disinfection of drinking water, *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(7): 4140-4143.
- Yaun, B.R., Sumner, S.S., Eifert, J.D. and Marcy, J.E. 2003. Response of *Salmonella* and *E. coli* O157:H7 to UV energy, *J. Food Protection*, 66(6): 1071-1073.
- Zimmer, J.L. and Slavson, R.M. 2002. Potential repair of *E. 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.
- Zimmer, J.L., Slavson, R.M. and Huck, P.M. 2003. Inactivation and potential repair of *C. parvum* following low- and medium-pressure ultraviolet irradiation, *Wat. Res.*, 37(14): 3517-3523.

**ANNEXE F : ARTICLE COMPLÉMENTAIRE DE CARON ET AL. SOUMIS
À *WATER RESEARCH***

Impact of Microparticles on UV Disinfection of Indigenous Aerobic Spores

By: Éric Caron*, Gabriel Chevretils*, Benoit Barbeau*, Pierre Payment**, and
Michèle Prévost*

* NSERC Industrial Chair on Drinking Water, École Polytechnique de Montreal,
Department of Civil, Geologic and Mining Engineering, P.O. Box 6079, Succ. Centre
Ville, Montreal (Quebec) Canada H3C 3A7

** INRS – Institut Armand-Frappier, 531 boul. des Prairies, Laval (Québec) Canada
H7V 1B7

Abstract

Disinfection processes may be hindered by the presence of particle that can shield micro-organisms. The main objective was to determine to what extent natural particulate matter can shield spores of aerobic spore forming bacteria (SASFB) from UV inactivation. The extent of the protective shielding was assessed by comparing the inactivations in three water fractions (untreated, dispersed and filtered on 8 µm membrane) using a collimated beam apparatus with a low pressure lamp emitting at 254 nm. Levels of inactivation were then related to the distribution and abundance of particles as measured by microflow imaging. Disinfection assays were completed on two source waters of different quality and particle content. A protocol was developed to breakdown particles and disperse aggregates (addition of 100 mg/L of Zwittergent 3-12 and blending at 8000 rpm for 4 minutes). Particle size distribution (PSD) analysis confirmed a statistically significant decrease of particles following the dispersion protocol and filtration. Required fluence to reach 1 log inactivation of ASFB spores was independent of particle concentration, whereas the fluence required to reach 2 log inactivation was correlated with the concentration of particles over 8 µm ($R^2 = 0.633$).

Results suggest that natural particulate matter can protect indigenous organisms from UV radiation in waters with elevated particle content while source water with low particle counts may not be subject to this interference.

Key words:

UV, disinfection, drinking water, particles, dispersion, spores

1. Introduction

Pioneer work showed that oocysts of *Cryptosporidium*, among the most resistant organisms to conventional chemical disinfection processes, can be inactivated by UV light ((Clancy, Hargy, Marshall et Dyksen 1998)). Additional studies confirmed the greater susceptibility of *Cryptosporidium* to UV light than most of the other targeted pathogenic microorganisms with reported fluences required for 1 log inactivation varying from 0.5 to 3 mJ/cm² ((Craig, Weldon, Finch, Bolton et Belosevic 2001); (Shin, Linden, Arrowood et Sobsey 2001); (Mofidi, Baribeau, Rochelle, De Leon, Coffey et Green 2001); (Zimmer, Slawson et Huck 2003)). Water quality can significantly influence the transmitted fluence and the resulting level of inactivation ((Qualls, Flynn et Johnson 1983); (Batch, Schulz et Linden 2004); (Mamane et Linden 2006b)). Dissolved and suspended compounds absorb UV energy and particulate matter can cause light scattering ((Qualls, Flynn et Johnson 1983); (Batch, Schulz et Linden 2004)). Light scattering may lead to an overestimation of UV absorbance and thus to an underestimation of the calculated fluence in a typical collimated beam UV experiments ((Qualls, Flynn et Johnson 1983)). Scattering of the UV rays increases the light's path length and the resulting absorbance by the water and lowers the energy available for disinfection ((Mamane-Gravetz et Linden 2004a)). Christensen and Linden (2003) report that a turbidity of 10 NTU can cause irradiance measurements made with a conventional spectrophotometer to be underestimated by 5%. In a cylindrical reactor of a diameter of 18 cm with a 50W low pressure UV lamp, this underestimation can reach up to 20% ((Christensen et Linden 2003)).

Since turbidity is a regulated, easy and widely used particle indicator in water treatment plants, attempts have been made to determine the threshold turbidity value under which no significant interference to UV disinfection could be anticipated. Various experimental approaches have relied on seeded micro-organisms and added natural or synthetic turbidity (inorganic, organic and chemical flocs), either combined by simple mixing or by forming particles to embed micro-organisms. Results provide insight into the effects of the dispersion of UV light by particles of various compositions, the adsorption of organisms onto particles in drinking water sources and the inclusion of micro-organisms in chemical flocs. In general, results suggest that the impact on the inactivation of mineral or organic turbidity under 10 NTU is not significant, if adequate correction is made to account for light scattering ((Wobma, Bellamy, Malley et Reckhow 2004) ; (Passantino et Malley Jr. 2001), (Passantino, Malley Jr., Knudson, Ward et Kim 2004) ; (Batch, Schulz et Linden 2004)). Recent studies have investigated the protective effect of chemical flocs and results suggest that turbidity below 10 UTN may impact the inactivation of coliform bacteria and of spores of *Bacillus* ((Mamane-Gravetz et Linden 2004a); (Templeton, Andrews et Hofmann 2005); (Ormeci et Linden 2002)). The general consensus is that the use of turbidity is probably too simplistic to account for the complex phenomena involved in particle shielding during UV disinfection.

UV disinfection studies suggest that the number, size distribution and chemical nature of particles are better predictors of the potential for shielding ((Qualls, Ossoff, Chang, Dorfman, Dumais, Lobe et al. 1985); (Mamane et Linden 2006b); (Templeton, Andrews et Hofmann 2005)). Particle shielding can significantly decrease the level of inactivation of coliform bacteria ((Ormeci et Linden 2002); (Qualls, Flynn et Johnson 1983); (Loge, Bourgeois, Emerick et Darby 2001); (Emerick, Loge, Thompson et Darby 1999); (Loge, Emerick, Thompson, Nelson et Darby 1999); (Parker et Darby 1995); (Emerick et Darby 1993); (Scheible 1987); (Emerick, Loge, Ginn et Darby

2000); (Qualls, Ossoff, Chang, Dorfman, Dumais, Lobe et al. 1985); (Jolis, Lam et Pitt 2001)) and aerobic spores ((Mamane et Linden 2006a); (Craik et Uvbiama 2005)). Three main factors may influence the extent of the influence of particles on UV disinfection: 1) the number and size of particles; 2) the degree of association of the particles and the micro-organisms; and 3) the nature of the particles.

(1) The number and size of particles. Wastewater results suggest that coliform shielding is mainly attributable to large particles of 7 – 10 μm dia. ((Qualls, Flynn et Johnson 1983); (Jolis, Lam et Pitt 2001)). Tailing is commonly observed for fluences over 30 mJ/cm^2 and considered to be the result of the protection of bacteria by the large flocs in wastewater effluents ((Loge, Bourgeois, Emerick et Darby 2001); (Parker et Darby 1995); (Scheible 1987)). Small particles of a diameter of less than 2 μm may shield small microorganisms such as MS2 and T4 bacteriophages ((Templeton, Andrews et Hofmann 2005)).

(2) The degree of association of the particles and microorganisms. The level of association of organisms with particles is a key factor in determining the health significance and the potential for shielding. The challenge is not as significant if the particles are not colonized or are unlikely to be colonized by pathogenic microorganisms. Although some experiments have been conducted to elucidate the extent of aggregation effect on UV disinfection performances ((Craik et Uvbiama 2005); (Templeton, Andrews et Hofmann 2005); (Mamane-Gravetz et Linden 2004a)), most results have been obtained with spiked microorganisms and seeded particulate matter with or without coagulation. They may not be indicative of the level of association of particle and microorganisms in source water.

(3) The nature of the particles. The nature of particles, inorganic versus organic, of natural and synthetic waters and the particle distribution may affect the level of shielding ((Mamane-Gravetz et Linden 2004a); (Templeton, Andrews et Hofmann 2005); (Mamane et Linden 2006b)). Mamane and Linden (2006) observed that 30 to 50% of seeded *B. subtilis* spores in chemical flocs were protected from UV light. Coagulated and filtered particles formed with *Bacillus subtilis* spores were partially

shielded from UV light ((Craik et Uvbiama 2005)). Particles from organic wastewater flocs and elevated concentrations of humic acids reduced viral inactivation by 1 to >2.5 log depending on UV fluence and on the organism tested (MS2 or T4 phages), while kaolin clay particles provided no significant protection ((Templeton, Andrews et Hofmann 2005)).

When investigating the impact of particles on UV disinfection of unfiltered water, the impact of natural particles found in the source can be assessed by measuring the inactivation of particle associated with indigenous organisms such as spores of aerobic spore forming bacteria (SASFB). SASFB are naturally present in surface water and enumerating them is easy, fast, low cost and reliable ((Barbeau, Boulos, Desjardins, Coallier, Prévost et Duchesne 1997)). Pure strains of *B. subtilis* are very resistant to UV ((Mamane-Gravetz, Linden, Cabaj et Sommer 2005) ; (Nicholson et Law 1999); (Sommer, Cabaj, Sandu et Lhotsky 1999); (Sommer, Haider, Cabaj, Pribil et Lhotsky 1998); (Chang, Ossoff, Lobe, Dorfman, Dumais, Qualls et al. 1985)) while spores indigenous to surface waters ((Mamane-Gravetz et Linden 2005); (Mamane-Gravetz et Linden 2004b)) and to soils ((Nicholson et Law 1999)) are even more resistant. SASFB are naturally associated with particles and can serve as a model without seeding or to adding synthetic turbidity and organic matter. The elevated resistance of SASFB to UV is an advantage because of the expanded scale of their response when compared to that of *Cryptosporidium*. This allows smaller but significant effects on water quality to be measured.

The primary objective of this project is to study the inactivation of indigenous SASFB in two source waters to evaluate if their natural state of aggregation or association with particles provides significant protection from 254nm UV light. The impact of particles is estimated by (1) measuring the effect of physico-chemical dispersion and membrane filtration (8 µm) on the inactivation rates of SASFB, (2) relating the variations in inactivation to the distribution of particles as measured by microflow imaging.

Dispersion causes partial break-ups of aggregates and particles. Membrane filtration removes large particles and provides an estimation of the proportion of the spore population associated with these particles.

2. Material and Methods

2.1 Water samples and experimental approach

Two surface waters sources were tested during this project: the Mille-Îles River (intake of the Régie Intermunicipale des Moulins WTP) and the St. Lawrence River (intake of the Charles-DesBaillets WTP). The former is characterized by a high organic content (TOC $\approx$ 6 mg C/L) and varying turbidity (10 to >35 NTU), and is impacted by wastewater effluents and combined sewer overflows, as indicated by the rather high fecal coliform concentrations. The Charles-DesBaillets water treatment plant (WTP) (Montreal, QC) draws its water from the St. Lawrence River and is considered a high-quality surface waters with low turbidity (<1.5 NTU) and TOC (<2.4 mg C/L). Detailed water quality is described in Chevretils et al. ((Chevretils, Caron, Barbeau, Payment et Prévost 2006)).

Five water samples were collected at each site from October 2005 to February 2006. Samples were collected, shipped on ice, maintained at 4°C upon reception and analyzed within 24 h.

The protocol used in this study is a modified version of the one proposed by Parker and Darby ((Parker et Darby 1995)) for wastewater. The protocol results in three fractions of water containing: i) non-dispersed spores: water samples are irradiated without any pre-treatment, after which the samples are blended to disperse the naturally occurring particles or aggregates prior to enumeration; ii) dispersed spores : samples are blended prior to irradiation to evaluate the impact of spore aggregation and/or embedment in particles; and iii) filtered spores: samples are filtered through 8 μ m pore membranes, after which the filtered samples are irradiated and then blended

to disperse spores prior to enumeration. All irradiated samples contained the chemical dispersion mix.

2.2 Dispersion of particulate matter

A dispersion protocol was first developed to induce particle breakdown and dispersion of aggregated microorganisms. The final selected procedure resulted from two sets of trials conducted using various surfactant solutions and different blending intensity and duration. The surfactant solutions tested were the Camper's solution, which was first proposed for the extraction of *E. coli* bacteria from granular activated carbon (GAC) ((Camper, LeChevallier, Broadaway et McFeters 1985)), or variations of the later solution. Camper's solution is a mix of 10^{-6} M of Zwittergent 3-12, Tris-Buffer (0.01 M), EGTA (10^{-3} M) and 0.1% peptone. Additional variations included: (i) the Camper solution but with a higher level of Zwittergent (10 mg/L), (ii) only Zwittergent 3-12 at 10 mg/L and (iii) only Zwittergent 3-12 at 100 mg/L. The optimal chemical blend was selected as the one maximizing aerobic spore counts for the same blending condition. Then the optimal blending conditions were determined by testing the combinations of four blending speeds (8 000, 15 400, 18 700 and 21 000 rpm) and four durations (2, 3, 4 and 5 minutes). Blending was performed using a Waring laboratory blender Model 7012 (Waring, Torrington, CT, USA). This experimental design was replicated six times over a two-month period in order to capture water quality variability.

Once optimal conditions were identified, dispersion was thereafter achieved by adding 100 mg/L Zwittergent 3-12 and blending for 4 minutes at 8,000 rpm. Two-minutes rest intervals followed each minute of blending to minimize any increase in water temperature and the presence of foaming.

2.3 Sample Filtration

To remove particles by filtration, samples were filtered under vacuum on 8 μ m pore size nitrocellulose filters (Millipore, SCWPO4700). A maximum of 100 mL were

filtered in order to limit cake filtration and prevent the rupture of the filter. Filtration was performed immediately before UV exposure and before particulate analysis to minimize post-filtration aggregation of particulate matter in the filtrate.

2.4 Particle size distribution analysis

Particle size distribution (PSD) analysis was carried out with a Brightwell Dynamic Particle Analyser (DPA) (Brightwell Technologies, Ottawa, Ontario) based on direct magnified photographic image analysis. A volume of 2 mL was analyzed for each sample, which resulted in a minimum of six thousand total counted particles, up to more than a hundred thousand particle counts. The detection limit of this apparatus is 1 μm .

2.5 Fluence measurements and UV treatment

The UV collimated beam apparatus was equipped with two low pressure ultraviolet lamps emitting at 254 nm (Trojan London, Ontario, Canada). The fluence rate applied in the reactors was adjusted prior to the calculation of the necessary irradiation time for a given fluence, in agreement with the standard method proposed by Bolton and Linden ((Bolton et Linden 2003)) and as described in detail by Chevretils et al. ((Chevretils, Caron, Barbeau, Payment et Prévost 2006)). UV absorbance was measured with the use of integrating sphere spectrophotometry (Variant, Cary 100, Victoria, Australia). Samples of 50 mL were irradiated in Petri dishes (9 cm dia). Three different irradiation sequences were applied to water samples: blending at 8 000 rpm before UV exposure, blending at 8 000 rpm after UV exposure, and 8 μm filtration before exposure followed by blending at 8 000 rpm. Blended and unblended samples were irradiated with fluences of 0, 20, 40 and 60 mJ/cm^2 . (voir exemple de calculs aux Annexes B et C)

2.6 Enumeration of spores

Natural indigenous spores of aerobic spore-forming bacteria (ASFB) were enumerated using the method of Barbeau et al. ((Barbeau, Boulos, Desjardins, Coallier, Prévost et Duchesne 1997)). Results are expressed as colony forming units per specified volume. After UV exposure, the samples were filtered in triplicates.

2.7 Data analysis

Bacterial counts for dispersion protocols are presented in the form of a release ratio relative to the initial counts for a given control sample: blended with no chemicals for the determination of the best chemical mix, and not blended with addition of the chemical mix for the trials on the optimization of the blending conditions. The use of a ratio allows the comparison of waters from experiments repeated over several sampling dates during which initial indigenous ASFB concentrations varied. Release ratios are calculated from each daily untreated control sample. Inactivation data are presented as the log function of N/N_0 , where N corresponds to the concentration of aerobic spores per 100 mL after treatment, dispersion and UV exposure. N_0 is the concentration of spores per 100 mL prior to UV exposures but after having been mixed with chemical solution (detergent) and dispersed by blending. For the 8 μm filtered fraction, the ASFB in the filtrate after blending is used as N_0 . Statistical analyses were performed using ANOVA Statistica version 7 for the ANOVA Dunnet, general linear model (GLM) and X^2 . Differences are considered statistically significant for p values <0.05 , unless stated otherwise.

3. Results and discussion

3.1 Optimization of dispersion

The comparison of the efficacy of various dispersion procedures was completed using water from des Mille-Îles River because of the abundance of ASFB spores and particulate matter found in that source. Results for the selection of the chemical dispersant trials are displayed in Figure 3.1. The original Camper procedure of chemical addition combined with blending yielded average ASFB spore counts slightly higher (by a factor 1.5) than those observed in non dispersed controls. Using an ANOVA, a significant increase of the ASFB spore release ratio of about 3 was confirmed using the higher concentration of Zwittergent 3-12 solution (100 mg/L) while differences between the other treatments were not found to be significant. Some of the ingredients of the Camper mix, particularly the peptone, affected the UV transmittance of the water sample which increased absorbance by nearly four folds. This interference and the lack of significant improvement in the release ratio led to the decision not to use these additional ingredients. The second step consisted of evaluating the impact of the duration and intensity of mechanical mixing. Various combinations of blending speeds and times were investigated using the optimal chemical mix (100 mg/L of Zwittergent 3-12). As shown on Figure 3.2, no obvious trends were observed as a function of the intensity and duration of the mechanical shear stress between 8 000 and 21 000 rpm. According to an ANOVA analysis, the only significant increases in colony counts from the control were observed for the samples blended at 8 000 rpm for 4 and 5 minutes and at 21 000 rpm for 5 minutes. The fact that the maximum observed release ratio is 1.4 suggests that few spore aggregates and/or embedded spores were broken into free spores, either because they did not exhibit a high level of aggregation with other spores in their natural environment, or because the dispersion protocol was not efficient in dispersing them. These results are in accordance with those reported by Parker and Darby (1995), who report maximum coliform release from wastewater samples with the application of blending at a speed of 19 000 rpm combined with the addition of the Camper mix

((Parker et Darby 1995)). Ormeci & Linden (2005) also concluded that increases of the mixing speed over 3 500 rpm or extending mixing time over 1 minute did not result in greater release of coliform bacteria and could even decrease counts from wastewater flocs and particles ((Ormeci et Linden 2005)). The range of the increase in counts resulting from dispersion found by these authors is coherent with that observed in the present study for which the average increase ratio barely exceeded 1.4 fold for a blending speed of 8 000 rpm. Although the results are not consistent for all rotational speeds tested, a blending duration of 4 minutes at 8000 rpm was chosen for optimal physical dispersion because it gave the highest recorded release ratio. Choosing the lower rotational speed also minimized foaming and temperature changes.

3.2 Particle breakdown

The effect of blending on particle size distribution (PSD) in water fractions was investigated using Microflow DPA. The effects of filtration and dispersion are presented in figures 3.3a and 3.3b showing the particle size distribution for each fraction and the two water types (Mille-Îles River & St. Lawrence River). Combined particles counts in major size classes over 5 μm are plotted in Figure 3.4 to facilitate the comparison of levels in the two source waters. The majority of particles was smaller than 5 μm (90% to 98%). Particles of such size even if very numerous are unlikely to shield organisms of the size of spores or oocysts. The cleaner source water contained less particles of all size range with an average total particle count of 51 886 particle/mL (<40 μm) as compared with a total average of 357 076 particles/mL for the Mille-Îles water. A statistical analysis was conducted on the data aggregated in 18 classes of counts of < 3 μm to > 20 μm by increments of 1 μm for each sampling date. The distribution of aggregated PSD being non-parametric, a Chi-square analysis was used and revealed that blending and filtration resulted in significant differences in PSD.

Blending had a more pronounced impact on large particles in the St. Lawrence source with reductions over 85% for particles over 10 μm . Filtration reduced the number of particles exceeding 8 μm by 83-98% resulting in low concentrations of less than 72 particles/mL. Filtration also removed particles of less than 8 μm most probably because of the decreased porosity of the cake formed on the filter as suspended material accumulated. On the other hand, even though the number of particles larger than 8 μm was significantly lowered, the filtrate still contained particles of diameters above 8 μm , possibly formed through post filtration orthokinetic aggregation ((Gregory 2006)). These results are in agreement with previous studies that observed the effect of blending on PSD, and reporting that blending caused fragmentation of large particles of 10 to 40 μm ((Parker et Darby 1995)).

3.3 Effect of blending

According to Ormeci and Linden (2005), two phenomena occur simultaneously during physical extraction: detachment as the result of shear stress increasing the counts and disturbance of bacteria reducing viable counts. Of primary importance is the verification of the impact of the extraction procedure on the susceptibility of the test organism to UV. A suspension of *Bacillus subtilis* spores (ATCC 6633) was submitted to the dispersion procedure. Results plotted on Figure 3.5 show the absence of significant differences between counts of blended and non-blended samples whether or not exposed to UV light at a fluence of 20 mJ/cm^2 . These results show that the dispersion protocol used did not impact spore survival, nor did it reduce the resistance of spores to UV radiation. No spores survived at higher fluences confirming previous observations that *B. subtilis* (ATCC 6633) is less resistant to UV light than indigenous spores in natural water samples or even spores from the same strain submitted to changes in culture conditions ((Mamane-Gravetz et Linden 2004b); (Severin, Suidan et Engelbrecht 1983); (Nicholson et Law 1999)). A 2 log inactivation was observed at a fluence of 20 mJ/cm^2 , whereas indigenous spores required much higher fluences for 2 log inactivations (Figures 3.6a and 3.6b). The resistance of these spores to UV

radiation was not only lower than indigenous spores are, they were also more susceptible to UV light than other ATCC 6633 *B.subtilis* spores reported in literature (voir Annexe A). Differences could result from factors such as different sporulating conditions, age of the spore culture, storage conditions.

3.4 Impact of particles on UV inactivation

Figures 3.6a and 3.6b present the results of UV inactivation results for the three water fractions combined for all sampling dates. The inactivation kinetic curves are described by linear models that follow the Chick-Watson law. Results reveal significant differences between the inactivation rates of the raw ($0.018 \text{ log.cm}^2/\text{mJ}$), dispersed ($0.026 \text{ log.cm}^2/\text{mJ}$) and filtered ($0.033 \text{ log.cm}^2/\text{mJ}$) samples of the Mille-Îles River water. Figures 3.4 reveal the extent of the reduction in the number of particles of all sizes following blending or filtration and a significant decrease of the number of particles greater than $5 \mu\text{m}$. The shift brought by blending (loss of 46-52% of particles $> 10 \mu\text{m}$) causes an increase in the rate of inactivation that translates into a significant decrease of the required fluence for a given log inactivation level. The ordinates $x=0$ are not significantly different from zero.

Differences between treatments were not significant for the St. Lawrence water and inactivation rates varied from -0.034 to $-0.039 \text{ log.cm}^2/\text{mJ}$. Although not significantly different, the inactivation rate for the filtered fraction was 15% higher ($0.039 \text{ log/mJ/cm}^2$). Several factors can be considered to explain the limited impact of particles in this water: (1) the lower number of particles: particle concentrations are much lower in St. Lawrence source than in the Mille-Îles River especially particles over $5 \mu\text{m}$ (21% of the counts for the Mille-Îles source); (2) the lower number of spores of SASFB: levels of indigenous ASFB spore in the St. Lawrence River water are almost ten times lower than in the Mille-Îles River. The lower numbers of spores limit the maximum fluence before reaching the detection limit to about 50 mJ/cm^2 , as opposed to 135 mJ/cm^2 for the des Mille-Îles River. It is possible that small

differences in inactivation or even tailing could occur at higher fluences; (3) the smaller proportion of SASFB associated with particles: Chevrefils et al. (2006) (voir article - annexe E) evaluated the level of association of the spore population in the test waters through the estimation of the parameter m from a parallel Chick-Watson model. They report values between nil for the St. Lawrence River to an average of 3% with maximum values of 9% for the Mille-Îles River. These values are lower than the 3-24% in particles (mean diameter 11-80 μm) reported for *Enterobacteriae* in wastewater by Emerick et al. (Emerick, Loge, Thompson et Darby 1999)). As the Mille-Îles River is impacted by sewage outflows and CSO discharges, it is possible that the higher level of association is the direct result of the influence of wastewater.

Figure 3.7 shows the correlation of the number of particles with a diameter greater than 8 μm in the Mille-Îles water against the fluence estimated for 2-log inactivation by the kinetic model described by Chevrefils *et al.* (2006). The 8 μm diameter was chosen in accordance with reports that the threshold particle size beyond which bacteria could benefit of some level of protection ranges between 7 and 10 μm (Qualls, Flynn et Johnson 1983); Jolis, Lam et Pitt 2001; Emerick, Loge, Thompson et Darby 1999, Cairns, Sakamoto, Comair et Gehr 1993)) and taking into account the size of spores and oocysts of *Cryptosporidium*. A statistically significant correlation is observed. The value of correlation coefficient ($r^2 = 0,63$) reflects the innate variability of the resistance of indigenous spores and also suggests that PSD is probably not the only factor influencing the kinetics of inactivation. The same analysis was performed for the required fluence for 1 log inactivation. Results indicated that there is no correlation between the two parameters (data not shown). Most fluence values for 1 log inactivation are between 20 and 40 mJ/cm^2 , independently of the concentration of particles over 8 μm . As more than 91% of the spores are not associated with particles, the lack of correlation is consistent with the inactivation of the suspended portion of the spores in this source. These results are also consistent with others suggesting that non particle-associated coliform bacteria dominate the population in wastewater and

can be readily inactivated by UV even in the presence of particles ((Ridgway et Olson 1982); (Ormeci et Linden 2002)). Reaching a second or third log of inactivation most likely includes reducing a significant proportion of spores associated to particles, thus making the inactivation kinetic more dependent on the concentration of particles large enough to harbor ASFB bacteria.

In this experiment, indigenous ASFB spores were used as surrogates for *Cryptosporidium* given their similarity in size and their abundance. The observed effects of particles on the inactivation of SASFB cannot be directly transferred to the prediction of UV inactivation of *Cryptosporidium*. Two major factors must be taken into consideration when attempting to relate this study to the inactivation of *Cryptosporidium*:

- (1) The level of association of the organisms with the particulate matter and the likelihood of this association. This information appears critical to the evaluation of the potential health risks associated with shielding by particles in unfiltered water. The level of association probably varies from one source water to another and from one micro-organism to another, but unfiltered protected sources are certainly less prone to significant colonization of particles. Available results on the attachment of *Cryptosporidium* oocysts are contradictory. After mixing with secondary effluents of sewage water for 24h, 70% of oocysts were found to be associated to particles ((Medema, Schets, Teunis et Havelaar 1998), whereas another study investigating association of oocysts with soil particles concluded that attachment was limited because of charge. The shielding potential of coagulant flocs could be significant because of the nature of the chemical particles and the fact that microorganisms are adsorbed, swept and imbedded into these flocs during coagulation.
- (2) Spores of ASFB are more resistant to UV making the investigation of a subtle but significant shielding effect possible. However, considering that a more than 3-log inactivation of *Cryptosporidium* would be achieved for a 1-log inactivation of indigenous spores, it appears that existing safety factors in fluence prescriptions may

be sufficient to compensate for the impact of particles in most high quality source waters.

4. Conclusions

Based on our findings, these conclusions can be inferred:

- A combination of low speed mechanical blending (8 000 rpm for 4 minutes) and chemical dispersion (addition of 100 mg/L of Zwittergent 3-12) was efficient to release spores of ASFB from particles or aggregates in two surface waters. Increasing blending speed did not improve the release of particle-associated spores.
- Blending and filtration significantly decreased the number of natural particles of all size ranges over 5 μm found in two surface waters.
- The proposed dispersion protocol did not have an effect on the survival of spores of *B. subtilis* ATCC 6633 and their susceptibility UV at 254 nm. This influence was not significant in the case of the second source water of higher quality.
- Particulate matter and aggregates significantly lowered the fluence based inactivation rate of indigenous spores of ASFB in the source water with elevated particle content and significant colonization of particles.
- When the desired inactivation of indigenous spores of ASFB level exceeds 1 log, the necessary fluence is significantly correlated to the concentration of particles with a diameter higher than 8 μm . The results can be extended to the inactivation of *Cryptosporidium* inside natural particles with caution. The extent of the protection of *Cryptosporidium* oocysts will depend on: (i) the number of large particles in the source; (ii) the level of aggregation and/or association of the oocysts with the particulate matter and (iii) the desired level of inactivation targeted. These variables are probably source-water dependent and future work should address the characterization of the natural state of *Cryptosporidium* for various types of waters and investigate the possible link between these parameters and the observed inactivation kinetics.

5.Acknowledgements

The authors would like to acknowledge the scientific contributions of Jacinthe Maily at the NSERC Chair on Drinking water and that of Dr. Bernard Clément, professor at École Polytechnique de Montreal, for their support in laboratory work and statistical analyses. They would also like to thank the staff of the Régie Intermunicipale Des Moulins municipal WTP and the Charles-DesBaillets WTP in Montreal, who provided the water samples. The project was funded by the NSERC Industrial Chair on Drinking Water and the Canadian Water Network. Chair partners included the City of Montreal, Ville Laval, John Meunier Inc. and NSERC.

5. Figures

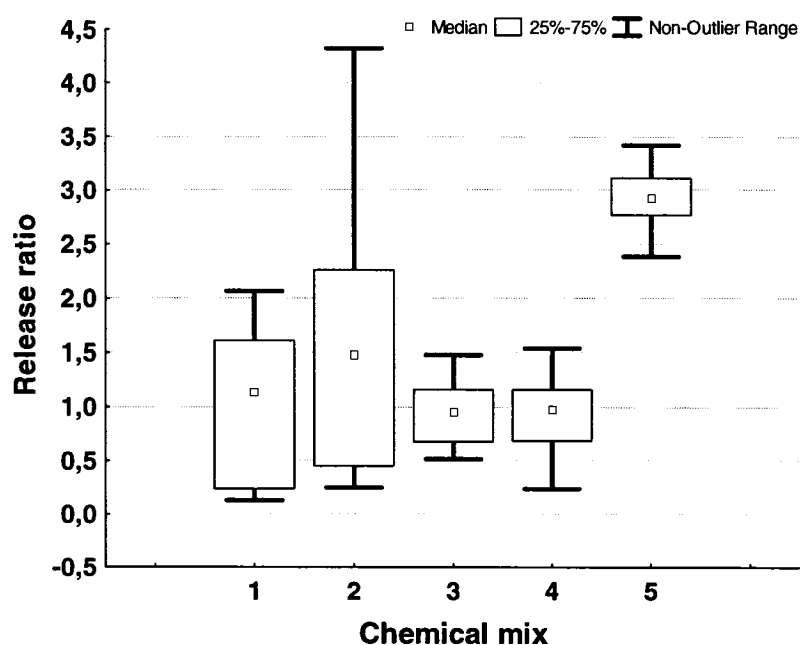


Figure 3. 1: Release ratio of spores of aerobic spore-forming bacteria for different dispersion treatments: (1) water plus Camper mix not blended, (2) water plus Camper mix blended, (3) water plus Camper's mix blended with 10 mg/L of Zwittergent 3-12, (4) water blended with 10 mg/L of Zwittergent 3-12 and (5) water blended with 100 mg/L of Zwittergent 3-12. Results are aggregated from four sampling campaigns.

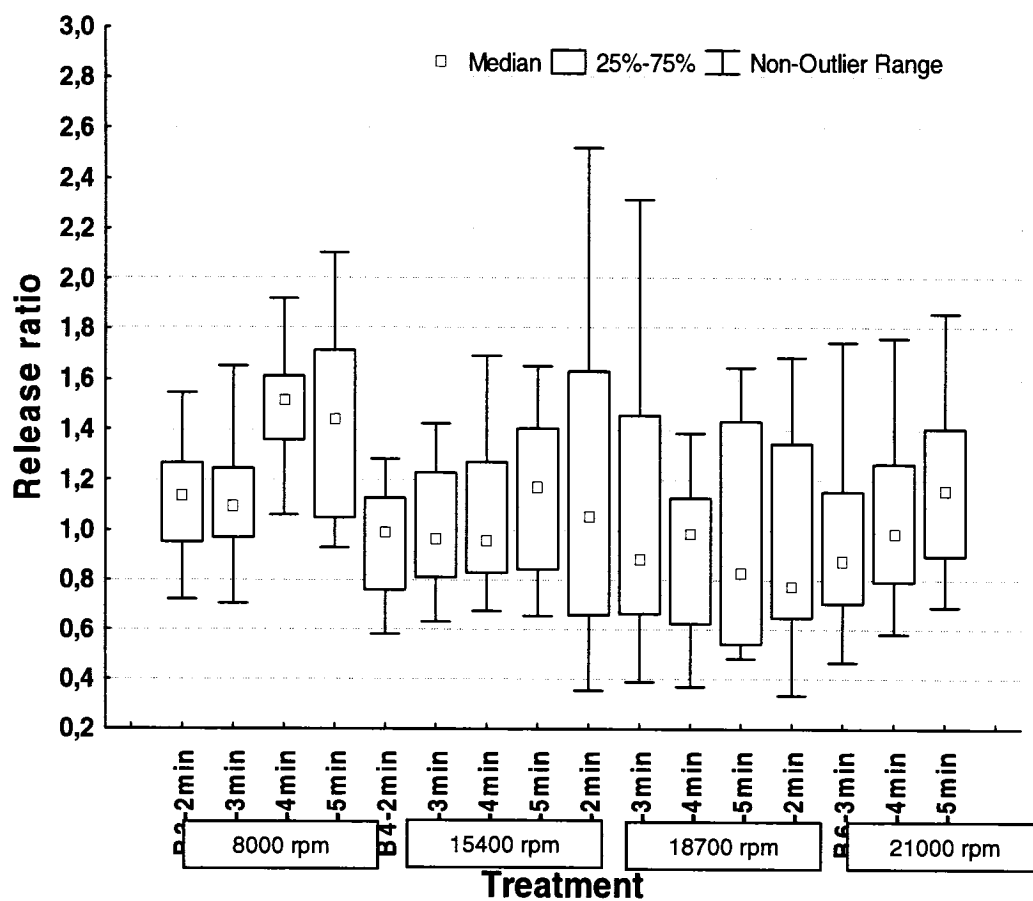


Figure 3. 2: Release ratio of spores of aerobic spore-forming bacteria for different blending treatments. Four speeds were tested: 8000 rpm, 15 400 rpm, 18 400 rpm and 21 000 rpm for 2, 3, 4 and 5 minutes. Results represent four replicate sampling campaigns.

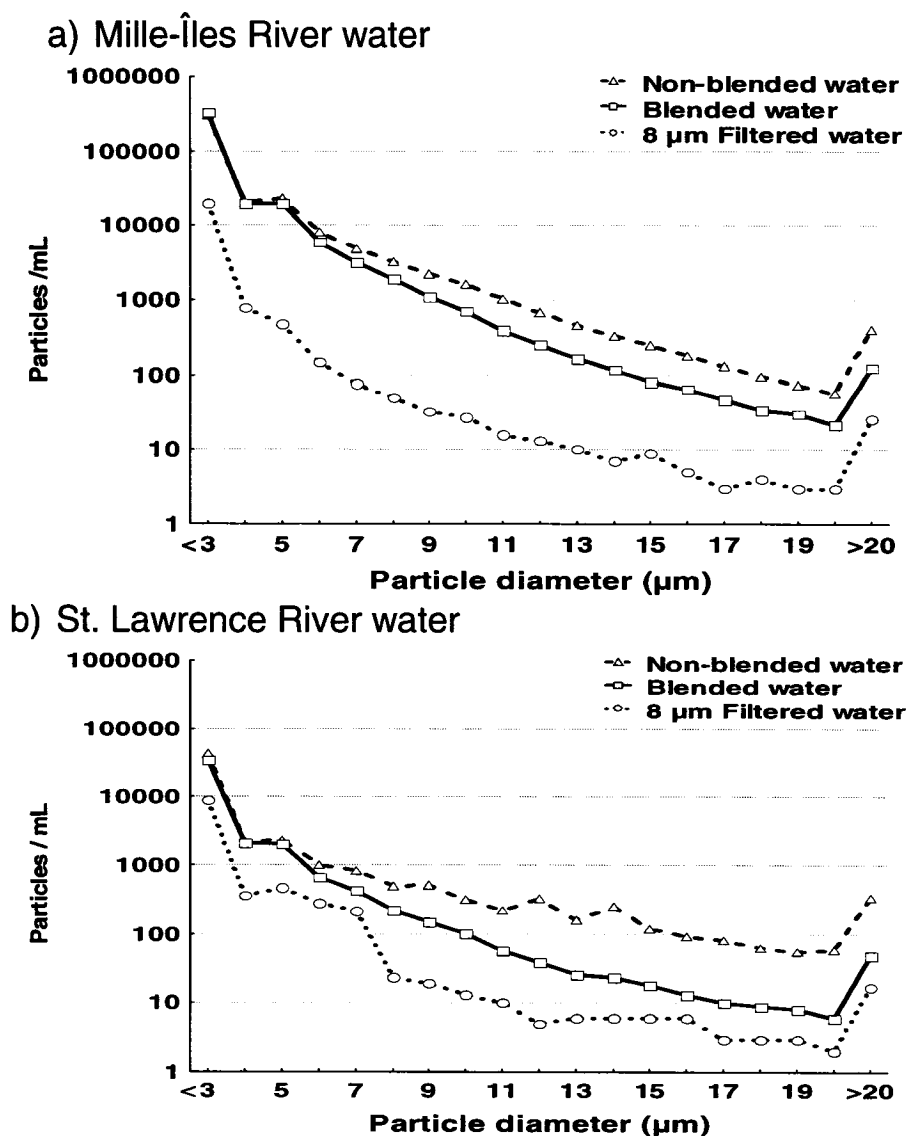


Figure 3. 3: Distribution of particle size in: (1) untreated raw water, (2) blended water at a speed of 8 000 rpm with 100 mg/L of zwittergent 3-12, and (3) filtered on 8 μm . Graph a) shows averaged data for 5 sampling dates of Des Mille Îles River; graph b) shows averaged data for 5 sampling dates of St-Laurence River

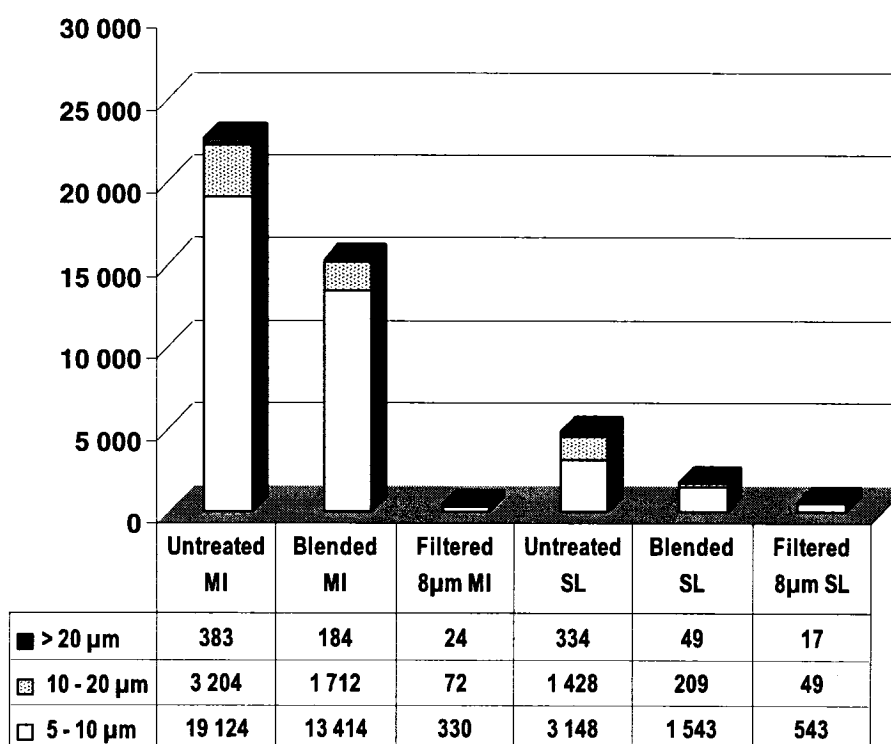


Figure 3. 4: Number of particles measured by DPA in: (1) untreated raw water, (2) blended water at a speed of 8 000 rpm with 100 mg/L of Zwittergent 3-12, and (3) filtered on 8 µm. MI - Mille-Îles water, SL – St. Lawrence water. Data represents average values from five sampling dates.

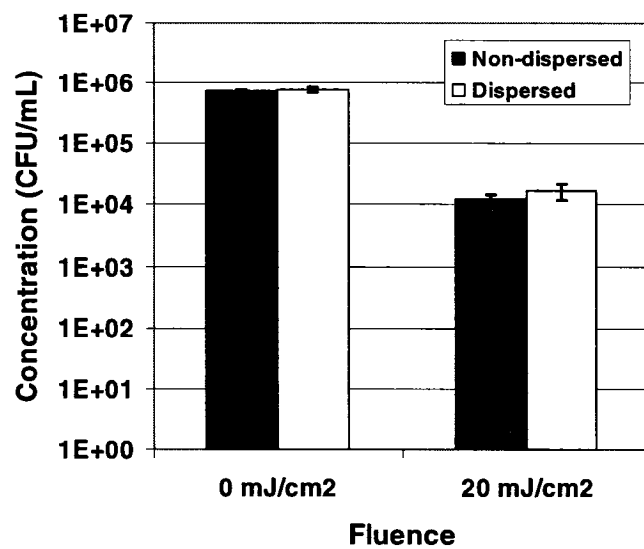
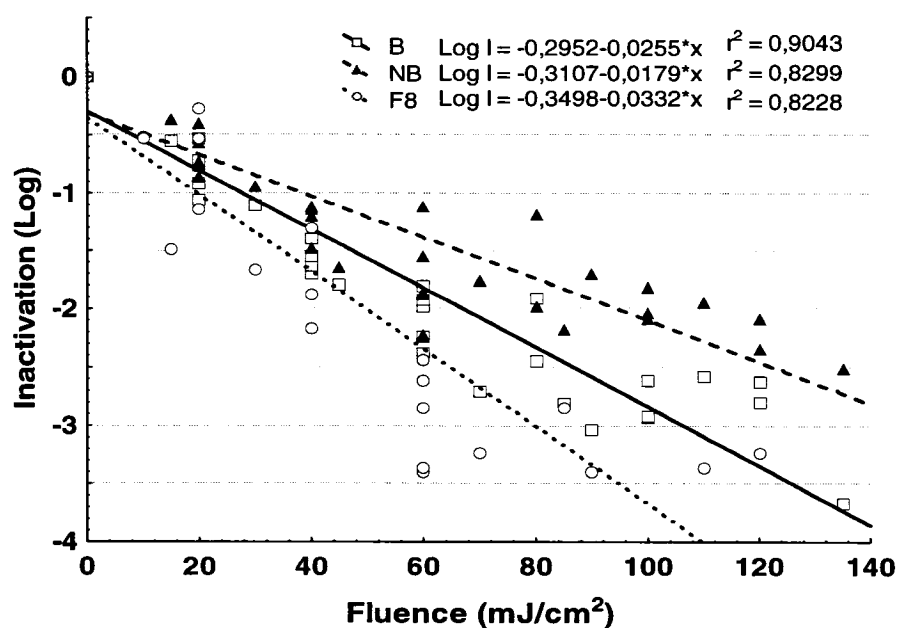


Figure 3. 5: Effect of blending on (i) spore survival and (ii) their sensitivity to UV light at 254nm. Error bars represent standard deviation.

a) Mille-Îles River



b) St. Lawrence River

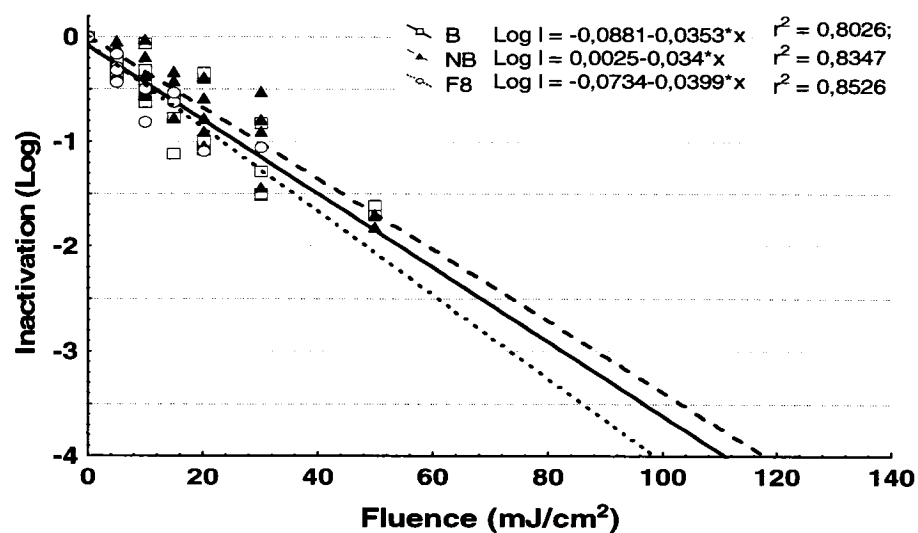


Figure 3. 6: ASFB spores inactivation curves for water from (a) the Mille-Îles River and (b) the St. Lawrence River. Data from 5 sampling dates were aggregated by treatment.

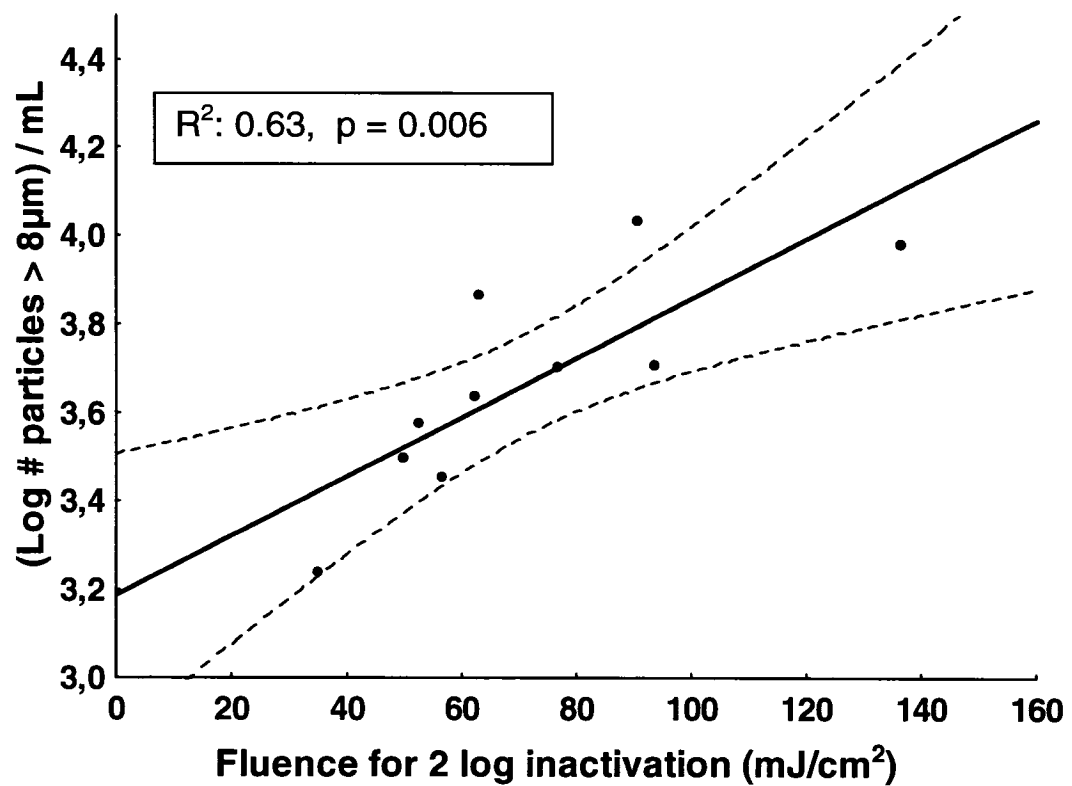


Figure 3. 7: Linear regression between the log value of the concentration of particles over 8 μm in diameter, and the required fluence (mJ/cm^2) to achieve 2 log of inactivation of ASFB in the Mille-Îles River water. Dotted lines are 95% confidence intervals.

References

- Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., Prévost, M., and Duchesne, D. (1997) A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 43 976-980.
- Batch, L.F., Schulz, C.R., and Linden, K.G. (2004) Evaluating water quality effects on UV disinfection of MS2 coliphage. *Journal of the American Water Works Association* 96 (7), 75-87.
- Bolton, J.R. and Linden, K.G. (2003) Standardization of methods for fluence (UV Dose) determination in bench-scale UV experiments. *Journal of Environmental Engineering* 129 (3), 209-215.
- Cairns, W. L., Sakamoto, G., Comair, C. B., and Gehr, R. Assessing UV disinfection of a physico-chemical effluent by medium pressure lamps using a collimated beam and pilot plant. 1993. Whippany, NJ, USA, Water Environment Federation Specialty Conference: Planning, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems.
- Camper, A.K., LeChevallier, M.W., Broadaway, S.C., and McFeters, G.A. (1985) Evaluation of procedures to desorb bacteria from granular activated carbon. *Journal of Microbiological Methods* 3 (3-4), 187-198.
- Chang, J.C.H., Ossoff, S.F., Lobe, D.C., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Qualls, R.G., and Johnson, J.D. (1985) UV inactivation of pathogenic and indicator microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology* 49 (6), 1361-1365.
- Chevrefils, G., Caron, É., Barbeau, B., Payment, P., and Prévost, M. (2006) Blending and filtration effects on UV kinetics of indigenous spores. *Journal of the American Water Works Association*.
- Christensen, J. and Linden, K.G. (2003) How particles affect UV light in the UV disinfection of unfiltered drinking water. *Journal of the American Water Works Association* 95 (4), 179-189.

Clancy, J.L., Hargy, T.M., Marshall, M.M., and Dyksen, J.E. (1998) UV light inactivation of *Cryptosporidium* oocysts. *Journal of the American Water Works Association* 90 (9), 92-102.

Craik, S. A. and Uvbiama, R. D. Effects of aggregation on UV inactivation of microorganisms in filtered drinking water. 2005. Quebec city, Quebec, Canada, American Water Works Association-Water Quality Technology Conference.

Craik, S.A., Weldon, D., Finch, G.R., Bolton, J.R., and Belosevic, M. (2001) Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium- and low-pressure ultraviolet radiation. *Water Research* 35 (6), 1387-1398.

Emerick, R. W. and Darby, J. L. Ultraviolet light disinfection of secondary effluents: predicting performance based on water quality parameters. 1993. Whippany, New Jersey, USA, Planning, Design and Operation of Effluent Disinfection Systems. Specialty Conference Series.

Emerick, R.W., Loge, F.J., Ginn, T., and Darby, J.L. (2000) Modeling the inactivation of particle-associated coliform bacteria. *Water Environmental Research* 72 (4), 432-438.

Emerick, R.W., Loge, F.J., Thompson, D., and Darby, J.L. (1999) Factors influencing ultraviolet disinfection performance. Part II: Association of coliform bacteria with wastewater particles. *Water Environment Research* 71 (6), 1178-1187.

Gregory, J. Particles in water. Properties and processes. 2006. Boca Ranton, Florida, USA, Taylor and Francis Group.

Jolis, D., Lam, C., and Pitt, P. (2001) Particle effects on ultraviolet disinfection of coliform bacteria in recycled water. *Water Environmental Research* 73 (2), 233-236.

Loge, F.J., Bourgeois, K., Emerick, R.W., and Darby, J.L. (2001) Variations in wastewater quality parameters influencing UV disinfection performance: relative impact of filtration. *Journal of Environmental Engineering* 127 (9), 832-836.

Loge, F.J., Emerick, R.W., Thompson, D.E., Nelson, D.C., and Darby, J.L. (1999) Factors influencing ultraviolet disinfection performance Part I: Light penetration to wastewater particles. *Water Environment Research* 71 (3), 377-381.

Mamane-Gravetz, H. and Linden, K. G. Impact of particle aggregated microbes on UV disinfection. 2004. San Antonio, Texas, USA, American Water Works Association-Water Quality Technology Conference.

Mamane-Gravetz, H. and Linden, K.G. (2004b) UV disinfection of indigenous aerobic spores: implications for UV reactor validation in unfiltered waters. *Water Research* 38 (12), 2898-2906.

Mamane-Gravetz, H. and 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-Gravetz, H., Linden, K.G., Cabaj, A., and Sommer, R. (2005) Spectral sensitivity of *Bacillus subtilis* spores and MS2 coliphage for validation testing of ultraviolet reactors for water disinfection. *Environmental Science and Technology* 39 (20), 7845-7852.

Mamane, H. and Linden, K.G. (2006a) Impact of particle aggregated microbes on UV disinfection. I: Evaluation of spore-clay aggregates and suspended spores. *Journal of Environmental Engineering* 132 (6), 596-606.

Mamane, H. and Linden, K.G. (2006b) Impact of particle aggregated microbes on UV disinfection. II: Proper absorbance measurement for UV fluence. *Journal of Environmental Engineering* 132 (6), 607-615.

Medema, G.J., Schets, F.M., Teunis, P.F.M., and Havelaar, A.H. (1998) Sedimentation of free and attached *Cryptosporidium* oocysts and *Giardia* cysts in water. *Applied and Environmental Microbiology* 64 (11), 4460-4466.

Mofidi, A.A., Baribeau, H., Rochelle, P.A., De Leon, R., Coffey, B.M., and Green, J.F. (2001) Disinfection of *Cryptosporidium parvum* with polychromatic UV light. *Journal of the American Water Works Association* 93 (6), 95-109.

Nicholson, W.L. and Law, J.F. (1999) Method for purification of bacterial endospores from soils: UV resistance of natural Sonoran desert soil populations of *Bacillus* spp. with reference to *B. subtilis* strain 168. *Journal of Microbiol Methods* 35 (1), 13-21.

Ormecı, B. and Linden, K.G. (2002) Comparison of UV and chlorine inactivation of particle and non-particle associated coliform. *Water Science and Technology: Water Supply* 2 (5-6), 403-410.

Ormecı, B. and Linden, K.G. (2005) Comparison of physical and chemical methods for extraction of coliform from wastewater particles and flocs. *Journal of Environmental Engineering and Science* 22 (4), 459-471.

Parker, J.A. and Darby, J.L. (1995) Particle-associated coliform in secondary effluents: shielding from ultraviolet light disinfection. *Water Environmental Research* 67 (7), 1065-1075.

Passantino, L., Malley Jr., J., Knudson, M., Ward, R., and Kim, J. (2004) Effect of low turbidity and algae on UV disinfection performance. *Journal of the American Water Works Association* 96 (6), 128-137.

Passantino, L. and Malley Jr., J. P. Impacts of turbidity and algal content of unfiltered drinking water supplies on the ultraviolet disinfection process. 2001. Washington, DC, USA, American Water Works Association-Annual Conference.

Qualls, R.G., Flynn, M.P., and Johnson, J.D. (1983) The role of suspended particles in ultraviolet disinfection. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 55 (10), 1280-1285.

Qualls, R.G., Ossoff, S.F., Chang, J.C.H., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Lobe, D.C., and Johnson, J.D. (1985) Factors controlling sensitivity in ultraviolet disinfection of secondary effluents. *Journal Water Pollution Control Federation* 57 (10), 1006-1011.

- Ridgway, H.F. and Olson, B.H. (1982) Chlorine resistance patterns of bacteria from two drinking water distribution systems. *Applied and Environmental Microbiology* 44 972-987.
- Scheible, O.K. (1987) Development of a rationally based design protocol for the ultraviolet light disinfection process. *Journal WPCF* 59 (1), 25-31.
- Severin, B.F., Suidan, M.T., and Engelbrecht, R.S. (1983) Kinetic Modeling of U.V. Disinfection of Water. *Water Research* 17 (11), 1669-1678.
- Shin, G.-A., Linden, K.G., Arrowood, M.J., and Sobsey, M.D. (2001) Low-pressure UV inactivation and DNA repair potential of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (7), 3029-3032.
- Sommer, R., Cabaj, A., Sandu, T., and Lhotsky, M. (1999) Measurement of UV radiation using suspensions of microorganisms. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 53 (1-3), 1-6.
- Sommer, R., Haider, T., Cabaj, A., Pribil, W., and Lhotsky, M. (1998) Time dose reciprocity in UV disinfection of water. *Water Science and Technology: Proceedings of the 1998 19th Biennial Conference of the International Association on Water Quality, Part 10 (of 10), Jun 21-26 1998* 38 (12), 145-150.
- Templeton, M.R., Andrews, R.C., and Hofmann, R. (2005) Inactivation of particle-associated viral surrogates by ultraviolet light. *Water Research* 39 (15), 3487-500.
- Wobma, P. C, Bellamy, W. D., Malley, J. P., and Reckhow, D. A. UV disinfection and disinfection by-products characteristics of unfiltered water. 2004. Denver, Colorado, USA, American Water Works Association Research Foundation and City of Winnipeg.
- Zimmer, J.L., Slawson, R.M., and Huck, P.M. (2003) Inactivation and potential repair of *Cryptosporidium parvum* following low- and medium-pressure ultraviolet irradiation. *Water Research* 37 (14), 3517-3523.

ANNEXE G : RÉSUMÉ POUR LA CONFÉRENCE JIE À POITIERS 2006

Évaluation de l'impact de la turbidité et des particules sur les performances de désinfection par rayons UV.

Michèle Prévost¹, Éric Caron¹, Gabriel Chevretils¹, Benoit Barbeau¹ et Pierre Payment²

Mise en contexte

L'application de rayonnement ultraviolet (UV) à 254 nm pour la désinfection des eaux potables représente une alternative avantageuse aux points de vue technique et économique. Ceci est principalement attribuable à leur grande efficacité pour l'inactivation des formes résistantes de *Cryptosporidium* et *Giardia* (Clancy, J.L. et al. 2000 ; Craik, S.A. et al. 2001, Shin, G.-A. et al. 2001, Mofidi, A.A. et al. 2001, Zimmer, J.L. et al. 2003). Ces deux protozoaires présents dans les eaux de surface sont les plus résistants aux traitements conventionnels de désinfection chimique tels que la chloration et l'ozonation. De plus, contrairement aux traitements chimiques conventionnels qui peuvent produire plusieurs sous-produits de désinfection, dont certains toxiques, les UVs génèrent très peu de sous-produits de désinfection aux fluences utilisées pour l'inactivation des protozoaires (Ijpelaar, G.F. et al. 2005).

L'application de la désinfection aux UVs à la production d'eau potable soulève des questions relatives à la constance des inactivations dans différentes matrices d'eau. Contrairement aux eaux usées, une inactivation plus complète et plus fiable des pathogènes est exigée en production d'eau potable. Le rôle protecteur de la matière

particulière pendant la désinfection aux UVs a soulevé certains doutes sur l'efficacité de ce traitement dans des eaux de surface turbides. Plusieurs études ont tenté d'élucider l'impact de la qualité de l'eau, mais les paramètres de qualité de l'eau tels que la turbidité, l'absorbance à 254nm et le carbone organique dissous ne peuvent expliquer les écarts de performances observés. L'impact de la présence de particules a d'abord été étudié sur des eaux usées en raison de la plus grande utilisation de cette technique pour la désinfection des effluents de stations d'épuration. La filtration sur 8µm peut : (1) accélérer la cinétique d'inactivation de coliformes totaux et (2) augmenter le niveau d'inactivation par rapport à celui observé dans de l'eau non filtrée (Jolis, D. et al. (2001)) et de spores de *Bacillus* (Qualls, R.G. et al. (1983)). Des études subséquentes ont démontré que la turbidité était un facteur à considérer mais pas directement déterminant du niveau de l'inactivation. Ces essais ont toutefois mis en évidence l'importance de bien mesurer la fluence pour tenir compte de réflexion de la lumière UV sur les particules. Une correction adéquate de la fluence (dose d'UV en mJ/cm^2) est obtenue en mesurant l'absorbance de l'eau avec un spectrophotomètre muni d'une sphère intégrante. Avec ces corrections, les mêmes niveaux d'inactivation sont observés dans des eaux de turbidités variables (Christensen, J. and Linden, K.G. (2003); Passantino, L. et al. (2004); Batch, L.F. et al. (2004)).

Les travaux de recherche disponibles sont fondés en majorité sur des résultats obtenus en ajoutant des spores ou autres organismes de souches pures de laboratoire dans des eaux synthétiques ou naturelles (Mamane *et al.* 2006 ; Blatchley, E.R. et al. (2005); Craik, S.A. and Uvbiama, R.D. (2005)). Or l'ajout d'organismes soulève la représentativité de l'agrégation et/ou de l'association des micro-organismes avec les particules. L'utilisation d'organismes indigènes présents dans les particules naturelles permet une évaluation directe de l'impact de l'agrégation ou l'association avec des particules naturelles. C'est pourquoi l'utilisation de spores de bactéries sporulantes aérobies SBSA apparaît préférable pour l'évaluation de la cinétique de désinfection des micro-organismes dans des conditions représentatives.

Objectifs des travaux

L'objectif principal de cette étude était d'observer l'impact de la présence de turbidité et de particules de différentes tailles sur l'efficacité de la désinfection UV de spores de bactéries sporulantes aérobies indigènes à deux eaux de surface et à une eau usée.

Matériel et méthodes

Sources d'eau

Les trois sources d'eau ont été choisies dans le but de refléter un large spectre de qualités d'eau. Ainsi, une eau de très bonne qualité, présentant une faible turbidité ($<1,5$ UTN) et une faible concentration de COD (<2.4 mg C/L) a été échantillonnée à la prise d'eau brute de l'usine de traitement Charles-DesBaillets, à Montréal (Qc. Canada), qui puise dans le fleuve St-Laurent. Des échantillons d'eau de la rivière Des Mille-Îles ont été prélevés à la prise d'eau brute de l'usine de traitement de la Régie Intermunicipale Des Moulins, à Terrebonne (Qc. Canada). Cette eau est caractérisée par de fortes turbidités (10 à >35 UTN) et une concentration élevée de COD (≈ 6 mg C/L). Finalement, les eaux usées alimentant l'usine de la Communauté Urbaine de Montréal (CUM) après dégrillage primaire ont été échantillonnées pour simuler des conditions de contamination de la source extrêmement défavorables (>35 UTN ; >10 mg C/L COD). Treize échantillons ont été prélevés entre octobre 2005 et avril 2006. Les échantillons ont été prélevés, transportés en condition réfrigérée, maintenus à 4°C à la réception et analysés dans les 24 heures suivantes.

Mesure des spores de bactéries sporulantes aérobie (SBSA)

L'énumération des spores de BSA a été réalisée selon la méthode de filtration membranaire proposée par Barbeau *et al.* (1997). L'échantillon est filtré sur $0,45\mu\text{m}$, le filtre est déposé sur un Petri pad contenant du TSB. Une pasteurisation de 15 minutes à 75°C est effectuée et finalement le Petri est incubé de 24h à 35°C .

Protocole de dispersion

Un protocole de dispersion/désagrégation des particules été élaboré dans le but de mesurer l'impact protecteur des particules. Une comparaison de l'efficacité de divers protocoles de dispersion a été effectuée par la mesure de la concentration des spores ainsi que par une analyse particulière de l'eau soumise à la dispersion. Différentes vitesses de malaxage ont été testées ainsi que différentes durées de malaxage. Le critère de sélection était le ratio de relargage des spores ($N / N_{\text{eau non malaxée}}$). Après avoir déterminé les meilleures conditions physiques, le mélange chimique optimal été choisi. Finalement, le protocole de dispersion qui fut retenu est un malaxage à 11 000 rpm pour une durée de quatre fois une minute de malaxage suivi de deux minutes de repos, afin de limiter l'augmentation de la température de l'eau. Pour la dispersion chimique, un ajout de 100 mg/L de zwittergent 3-12 est suffisant pour donner lieu aux meilleurs résultats de dispersion sans production excessive de mousse. La combinaison d'ajout de dispersant et d'un malaxage a aussi été démontrée avec *E. coli* et les coliformes totaux (Camper, A.K. et al. 1985; Parker, J.A. and Darby, J.L. 1995). En plus de la dispersion, une filtration sur membrane de 8 µm était également effectuée parallèlement.

Dénombrement des particules et analyses physico-chimiques

Les comptes de particules ont été réalisés à l'aide d'un Brightwell Dynamic Particle Analyser (DPA) (Brightwell, Ottawa, Canada). Cet appareil permet un compte direct des particules par analyse d'image. Il peut ainsi déterminer directement la taille des particules avec une précision de 1 µm. Les mesures de COT ont été réalisées à l'aide d'un analyseur de COT (Teckmar, Dohrmann, DC180, Mason, Ohio, USA). L'alcalinité, le pH et la dureté ont été mesurés à l'aide de sonde selon les méthodes standards 2320B, 4500H et 2340C (American Public Health Association (APHA) (1998)).

Essais d'irradiation

Les irradiations UV ont été réalisées à l'aide d'un montage à faisceaux collimatés muni de deux lampes UV basse-pression monochromatique (253,7nm). Le taux de fluence a été mesuré à l'aide d'un radiomètre calibré (International Light IL1400A, Newbury, MA, USA), et corrigé selon la méthode proposée par Bolton et Linden (2003). L'absorbance à 253,7nm des échantillons d'eau a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre (Varian, Cary 100 Scan, UV-Visible, Victoria, Australie) muni d'une sphère intégrante (Labsphere, North Sutton, NH, USA) permettant la correction de la mesure en présence de particules.

Plan expérimental

Pour quantifier l'effet de la présence de particules ou d'agrégats microbiens sur la désinfection UV, un protocole de dispersion et d'irradiation a été élaboré. Chaque échantillon est séparé en trois sous-échantillons (Figure 1) :

- 1) Spores non-dispersées (ND): l'eau est irradiée sans traitement préalable. Ensuite, elle est dispersée par malaxage et la concentration de spores de BSA est mesurée.
- 2) Spores dispersées (D) : l'eau est dispersée par malaxage pour partitionner les agrégats de spores naturels et ensuite irradiée avant la mesure de la concentration de spores.
- 3) Spores libres (F8) : l'eau est filtrée sur une membrane de 8 μ m, irradiée et ensuite malaxée préalablement à la mesure de la concentration de spores. Les spores restantes après la filtration sont considérées comme libres car les agrégats et les particules de taille suffisante pour leur assurer une protection ont été enlevés.

Les performances de désinfection sont ensuite comparées pour chacune des trois fractions résultantes soit : l'eau brute, l'eau dispersée et l'eau filtrée.

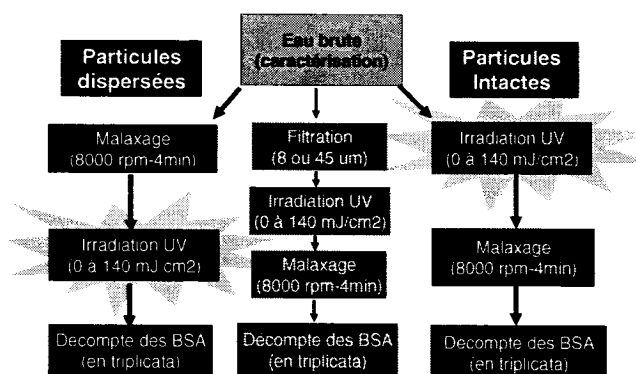


Figure 1: Plan expérimental

Description des cinétiques d'inactivation

Les concentrations de spores survivantes, suite à l'irradiation UV, sont tracées en fonction de la fluence appliquée selon la formule de Chick-Watson parallèle suivante :

$$\log_{10} (N/N_0) = \log_{10} [(1-m)10^{-k_s H} + m10^{-k_a H}]$$

où N est la concentration de spores survivantes suite à l'irradiation d'une fluence H (mJ/cm^2), N_0 est la concentration initiale (sans irradiation), k_s est le taux d'inactivation des spores libres (cm^2/mJ), k_a est le taux d'inactivation des spores agrégées ou résistantes (cm^2/mJ) et m représente la proportion de spores agrégées ou résistantes. Notons que l'on retrouve la relation de Chick-Watson classique en posant $m = 0$, $m = 1$ ou $k_s = k_a$.

Résultats

L'efficacité du protocole de dispersion qui a été mis au point est illustrée à la Figure 2 qui montre un exemple de distribution des particules dans l'eau brute, l'eau brute dispersée et l'eau brute filtrée. La figure 2 montre une diminution importante des

particules de plus de 5 μm par la dispersion et encore plus par la filtration sur 8 μm pour les eaux alimentant l'usine Charles-DesBaillets. Des résultats semblables ont été obtenus pour les autres sources d'eau.

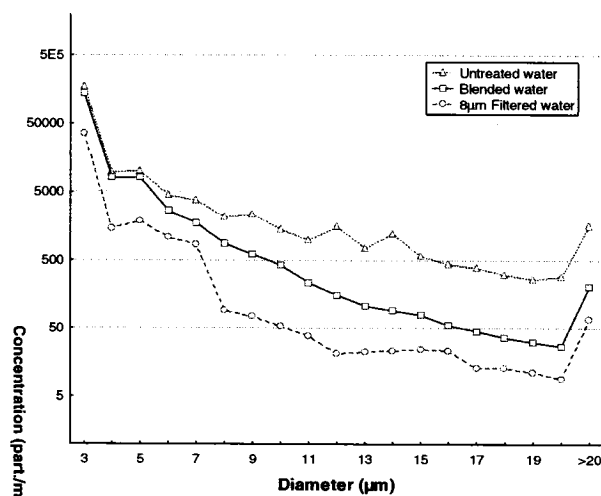


Figure 2 : Concentration de particules dans les eaux brutes, dispersées et filtrées de l'usine Charles-DesBaillets.

Les concentrations de spores de BSA dans les eaux brutes, ainsi que les paramètres de qualité physico-chimiques des échantillons sont présentées au Tableau 1. On remarque les différences de qualité d'eau brute entre les trois sources (St-Laurent < Des Mille-Îles < Eaux usées).

	Spores BSA UFC/100mL	Turbidité UTN	Transmittance@254nm %	COT mg O/L	COD mg O/L	pH	Dureté mg CaCO ₃ /L	Alcalinité mg CaCO ₃ /L
Rivière St-Laurent								
22-11-2005	2.0E+02	1.47	89.4	2.34	2.31	7.8	120	85
19-12-2005	8.0E+01	1.04	90.0	2.20	2.18	7.6	120	82
13-01-2006	7.0E+01	0.75	94.4	2.33	2.33	7.8	120	85
18-01-2006	4.6E+02	1.40	92.4	2.24	2.22	7.6	118	81
20-01-2006	3.9E+02	1.31	87.9	2.19	2.17	7.8	120	84
Rivière des Mille-Îles								
17-10-2005	2.3E+04	36.2	39.9	6.19	6.05	ND	100	80
18-10-2005	8.0E+03	16.7	52.7	6.08	6.05	ND	94	88
16-11-2005	5.1E+03	14.2	53.4	5.98	5.91	7.3	92	63
24-01-2006	3.0E+03	11.1	53.8	5.95	5.82	7.0	64	46
12-04-2006	3.7E+03	28.0	52.9	ND	ND	ND	ND	ND
18-04-2006	1.8E+03	13.1	54.8	ND	ND	ND	ND	ND
Eaux usées de Montréal								
29-11-2005	6.2E+04	43.0	49.4	13.1	6.45	7.3	248	161
05-12-2005	2.5E+04	77.0	38.3	31.5	11.1	7.1	232	189

Tableau 1: Paramètres physico-chimiques des échantillons (N/D: Non-disponible)

Un exemple des résultats de la modélisation détaillée d'une série de données est présenté à la Figure 2. On y note la cinétique en deux temps dans le cas des eaux non dispersées.

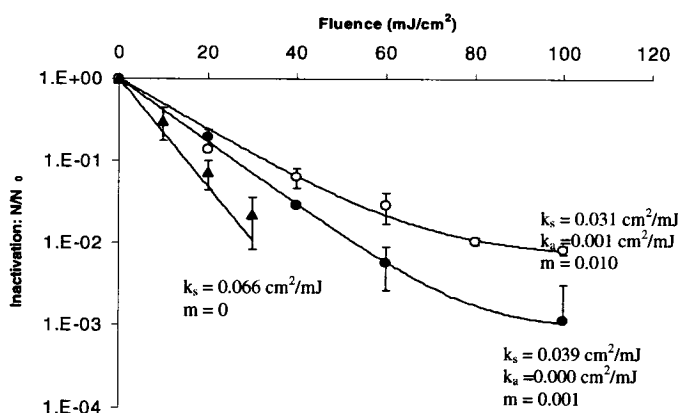


Figure 2: Résultats d'essais d'inactivation sur l'échantillon de la rivière Des Mille-Îles le 12 avril 2006 (○: spores non-dispersées, ●: spores dispersées, ▲: spores libres).

L'application de ce modèle permet de calculer les paramètres cinétiques d'inactivation présentés au Tableau 2. Les valeurs de k_s ont varié de 0,026 à 0,091 cm^2/mJ pour les spores dispersées (D), de 0,018 à 0,066 cm^2/mJ pour les spores non-dispersées (ND) et

de 0,039 à 0,068 cm^2/mJ pour les spores libres (F8). Aussi, aucun des échantillons provenant du fleuve St-Laurent ne présente de plafonnement d'inactivation ($m = 0$), tandis que tous les échantillons, sauf un, en provenance de la rivière Des Mille-Îles et des eaux usées présentent un certain degré de plafonnement ($m \neq 0$), lorsque non-dispersés (ND).

	$k_s(\text{cm}^2/\text{mJ})$			$k_a(\text{cm}^2/\text{mJ})$			m			R^2		
	ND	D	F8	ND	D	F8	ND	D	F8	ND	D	F8
Fleuve St-Laurent												
22-11-2005	0.033	0.043	0.045	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.72	0.90	0.59
19-12-2005	0.019	0.026	0.047	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.25	0.80	0.76
13-01-2006	0.029	0.048	0.052	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.71	0.90	0.94
18-01-2006	0.050	0.056	0.061	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.99	0.83	0.99
20-01-2006	0.030	0.037	0.039	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.86	0.79	0.78
Rivière Des Mille-Îles												
17-10-2005	0.038	0.041	ND	0.000	0.000	ND	0.006	0.001	ND	0.91	0.99	ND
18-10-2005	0.036	0.075	ND	0.009	0.018	ND	0.049	0.033	ND	0.94	0.98	ND
16-11-2005	0.020	0.046	ND	0.000	0.008	ND	0.094	0.023	ND	0.99	0.99	ND
24-01-2006	0.032	0.037	ND	0.000	0.000	ND	0.009	0.002	ND	0.93	0.94	ND
12-04-2006	0.031	0.039	0.066	0.001	0.000	-	0.010	0.001	0.000	0.98	0.99	0.99
18-04-2006	0.018	0.029	0.068	-	-	-	0.000	0.000	0.000	0.80	0.93	0.99
Eaux usées de M												
29-11-2005	0.063	0.091	ND	0.001	0.009	ND	0.022	0.019	ND	0.69	0.96	ND
05-12-2005	0.034	0.048	0.042	0.000	0.008	-	0.013	0.016	0.000	0.96	0.99	0.91

Tableau 2: Paramètres cinétiques d'inactivation UV de spores de BSA indigènes utilisant le model Chick-Watson parallèle (ND : spores non-dispersées, D : spores dispersées, F8 : spores libres, N/D : non-disponible)

On remarque au Tableau 2 que le taux d'inactivation des spores libres, k_s , augmente systématiquement suite à la dispersion par malaxage assistée chimiquement et à la filtration sur $8\mu\text{m}$. Ces augmentations sont de l'ordre de 30% pour la dispersion et de 20% à 60% pour la filtration. De plus, le paramètre m diminue dans pratiquement tous les cas où $m \neq 0$ suite au malaxage, et il est toujours nul suite à la filtration. La valeur de m précise le niveau d'inactivation atteint le point de rupture de plafonnement auquel le taux d'inactivation passe de k_s à k_a . Dans tous les cas, la filtration a enlevé le plafonnement d'inactivation (tailing). L'efficacité de la filtration montre l'importance de la présence de particules de taille supérieure à $8\mu\text{m}$ sur la présence d'un

plafonnement d'inactivation, ce qui avait déjà été montré lors d'essais d'inactivation de bactéries coliformes dans des effluents d'eaux usées (Qualls, R.G. et al. 1983; Qualls, R.G. et al. 1985; Jolis, D. et al. 2001).

Les résultats ont aussi été traités globalement en regroupant les courbes d'inactivation pour une combinaison de traitement et de source. Ainsi les résultats d'analyse par régression linéaire montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre les traitements pour la source du St-Laurent alors que des augmentations significatives ($p < 0,05$) sont observées pour les eaux de la rivière des Mille-Îles et les eaux usées. Le taux d'inactivation est toujours le plus élevé pour la fraction ayant été filtrée, suivi de la fraction dispersée. La Figure 3 montre l'évolution des courbes d'inactivation pour la rivière des Mille-Îles.

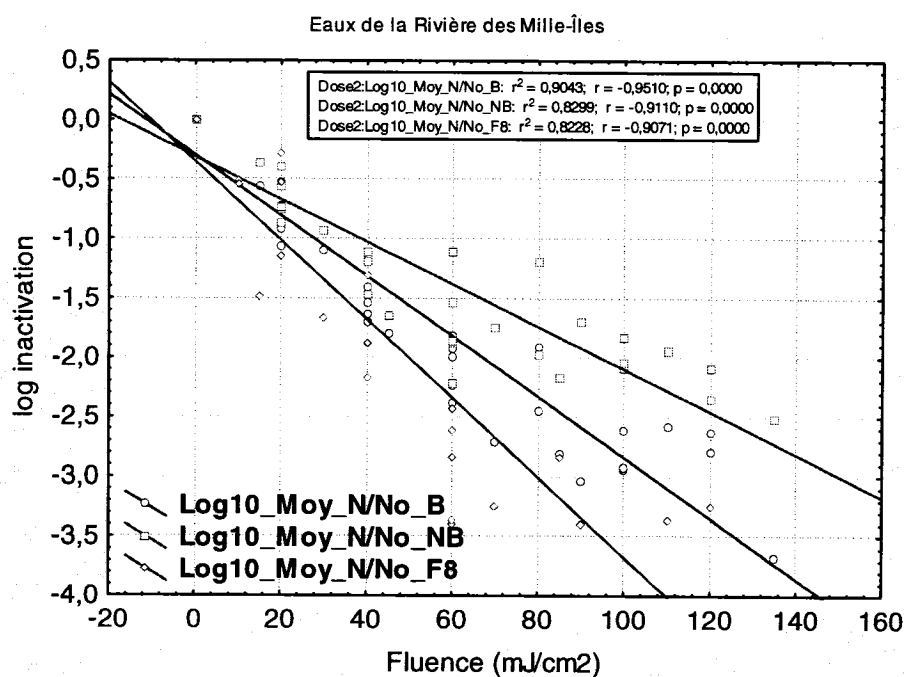


Figure 3 : Résultats de l'analyse des données regroupées par régression linéaire pour les eaux de la Rivière des Mille-Îles.

Une corrélation significative est aussi observée entre la fluence nécessaire pour obtenir 2 log d'inactivation et la concentration de particules ayant un diamètre supérieur 8µm (Figure 4). Cette corrélation n'était toutefois pas obtenue au niveau de la fluence requise pour le premier log d'inactivation. Le premier log d'enlèvement est probablement indépendant de la concentration de particules en suspension dans l'eau, possiblement à cause de l'inactivation de la fraction des spores qui sont libres en suspension dans l'eau. Le 2^e log d'inactivation serait associé à la fraction associée à des particules ou agrégée.

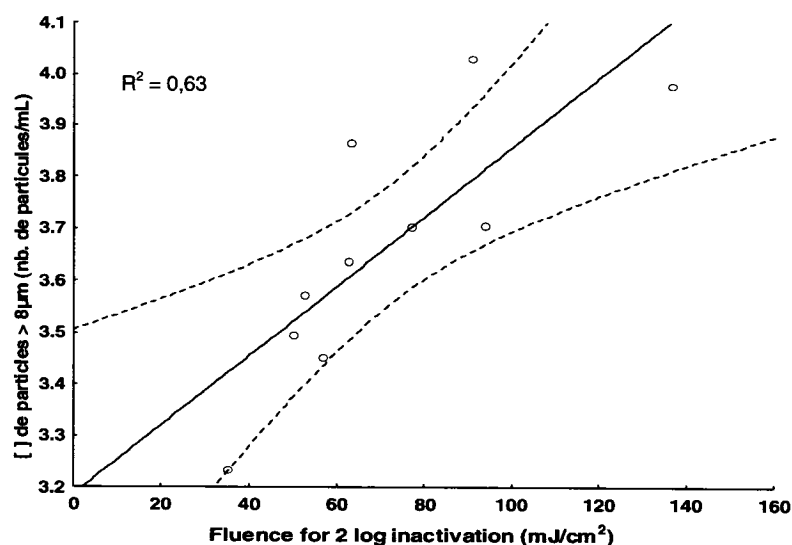


Figure 4: Fluence pour atteindre 2-log d'inactivation de spores de BSA indigènes en fonction de la concentration de particules de taille >8µm. Les pointillés représentent l'intervalle de confiance à 95%.

L'application des résultats sur les spores permet d'évaluer indirectement l'impact de la turbidité et des particules sur l'inactivation de *Cryptosporidium* et de *Giardia*. Toutefois, la plus grande sensibilité de *Cryptosporidium* à l'irradiation UVs (Figure 5) suggère que les facteurs de sécurité appliqués en conception sont suffisants pour compenser l'effet des particules dans les gammes de valeurs étudiées.

Conclusion

Dans le cadre de cette étude, l'utilisation de spores aérobies indigènes a permis de déterminer l'impact de la présence de turbidité et de particules naturelles sur l'efficacité de désinfection par rayons UVs à 254nm. Cette approche permet de constater les impacts de l'agrégation naturelle sur la désinfection UV, ce qui n'est pas possible avec des micro-organismes ajoutés ou des particules synthétiques. Les résultats obtenus montrent que la turbidité et les particules dans des eaux de surface de bonne qualité n'ont pas d'impacts significatifs sur l'inactivation par UVs. Dans le cas d'eaux plus fortement chargées, une concentration élevée de particules peut augmenter les fluences à appliquer pour atteindre un niveau d'inactivation donné de spores.

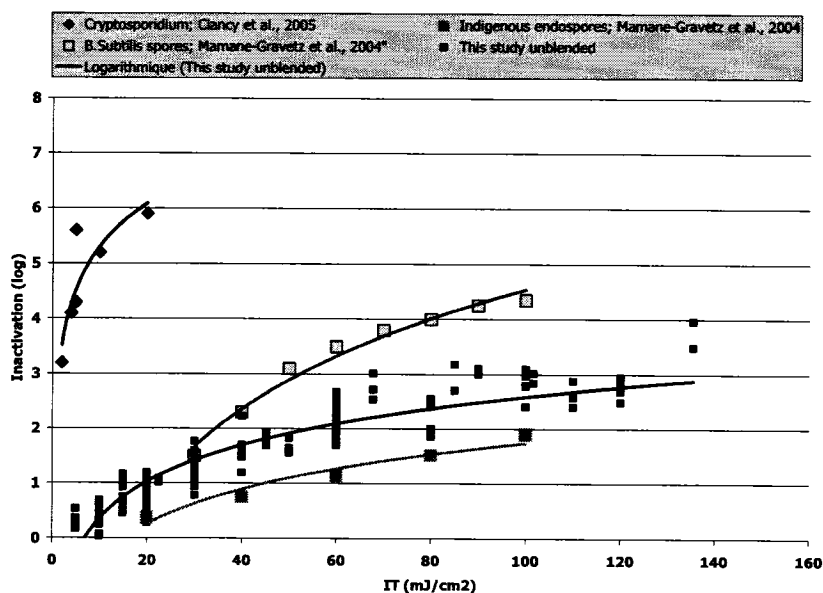


Figure 5: Log d'inactivation en fonction de la fluence UV.

Références

American Public Health Association (APHA). Standard methods for the examination of water and wastewater (20th Edition). Clesceri, L. S., Greenberg, A. E., Eaton, A. D., and Franson, M. A. H. 1220. 1998. Washington, DC, USA

Barbeau, B., Boulos, L., Desjardins, R., Coallier, J., Prévost, M., and Duchesne, D. (1997) A modified method for the enumeration of aerobic spore-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 43 976-980.

Batch, L.F., Schulz, C.R., and Linden, K.G. (2004) Evaluating water quality effects on UV disinfection of MS2 coliphage. *Journal of the American Water Works Association* 96 (7), 75-87.

Blatchley, E.R., Meeusen, A., Aronson, A.I., and Brewster, L. (2005) Inactivation of bacillus spores by ultraviolet or gamma radiation . *Journal of Environmental Engineering* 131 (9), 1245-1252.

Bolton, J.R. and Linden, K.G. (2003) Standardization of methods for fluence (UV Dose) determination in bench-scale UV experiments. *Journal of Environmental Engineering* 129 (3), 209-215.

Camper, A.K., LeChevallier, M.W., Broadaway, S.C., and McFeters, G.A. (1985) Evaluation of procedures to desorb bacteria from granular activated carbon. *Journal of Microbiological Methods* 3 (3-4), 187-198.

Christensen, J. and Linden, K.G. (2003) How particles affect UV light in the UV disinfection of unfiltered drinking water. *Journal of the American Water Works Association* 95 (4), 179-189.

Clancy, J.L., Bukhari, Z., Hargy, T.M., Bolton, J.R., Dussert, B.W., and Marshall, M.M. (2000) Using UV to inactivate *Cryptosporidium*. *Journal of the American Water Works Association* 92 (9), 97-104.

Craik, S.A., Weldon, D., Finch, G.R., Bolton, J.R., and Belosevic, M. (2001) Inactivation of *Cryptosporidium parvum* oocysts using medium- and low-pressure ultraviolet radiation. *Water Research* 35 (6), 1387-1398.

Craik, Stephen A. and Uvbiama, Rukevwe Dennis. Effects of Aggregation on UV Inactivation of Microorganisms in Filtered Drinking Water. Water Quality Technology Conference and Exhibition - Water Knows no Boundaries = Une eau sans frontières. 2005. Denver, Colorado, American Water Works Association.

Ijpelaar, G.F., Van Der Veer, A.J., Medema, G.J., and Kruithof, J.C. (2005) By-product formation during ultraviolet disinfection of a pretreated surface water. *Journal of Environmental Engineering and Science* 4 (Supplement 1), 51-56.

Jolis, D., Lam, C., and Pitt, P. (2001) Particle effects on ultraviolet disinfection of coliform bacteria in recycled water. *Water Environmental Research* 73 (2), 233-236.

Mofidi, A.A., Baribeau, H., Rochelle, P.A., De Leon, R., Coffey, B.M., and Green, J.F. (2001) Disinfection of *Cryptosporidium parvum* with polychromatic UV light. *Journal of the American Water Works Association* 93 (6), 95-109.

Parker, J.A. and Darby, J.L. (1995) Particle-associated coliform in secondary effluents: shielding from ultraviolet light disinfection. *Water Environmental Research* 67 (7), 1065-1075.

Passantino, L., Malley Jr., J., Knudson, M., Ward, R., and Kim, J. (2004) Effect of low turbidity and algae on UV disinfection performance. *Journal of the American Water Works Association* 96 (6), 128-137.

Qualls, R.G., Flynn, M.P., and Johnson, J.D. (1983) The role of suspended particles in ultraviolet disinfection. *Journal of the Water Pollution Control Federation* 55 (10), 1280-1285.

Qualls, R.G., Ossoff, S.F., Chang, J.C.H., Dorfman, M.H., Dumais, C.M., Lobe, D.C., and Johnson, J.D. (1985) Factors controlling sensitivity in ultraviolet disinfection of secondary effluents. *Journal Water Pollution Control Federation* 57 (10), 1006-1011.

Shin, G.-A., Linden, K.G., Arrowood, M.J., and Sobsey, M.D. (2001) Low-pressure UV inactivation and DNA repair potential of *Cryptosporidium parvum* oocysts. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (7), 3029-3032.

Zimmer, J.L., Slawson, R.M., and Huck, P.M. (2003) Inactivation and potential repair of *Cryptosporidium parvum* following low- and medium-pressure ultraviolet irradiation. *Water Research* 37 (14), 3517-3523.