

Caractérisation bioanalytique des eaux usées de Norsk Hydro Canada Inc. à Bécancour (Québec)

Richard Legault

Écotoxicologie et chimie environnementale
Laboratoire régional

Centre Saint-Laurent
Conservation de l'environnement
Environnement Canada - Région du Québec

Janvier 1996

COMMENTAIRES DES LECTEURS

Veillez adresser vos commentaires sur le contenu du présent rapport au Centre Saint-Laurent, Direction de la conservation, Environnement Canada, région du Québec, 105, rue McGill, 4^e étage, Montréal (Québec) H2Y 2E7.

On devra citer la publication comme suit :

Legault, R. 1996. *Caractérisation bioanalytique des eaux usées de Norsk Hydro Canada Inc. à Bécancour (Québec)*. Environnement Canada, Conservation de l'environnement, région du Québec, Centre Saint-Laurent. Rapport scientifique et technique ST-36, 40 pages.

Collaborateurs

Ont participé à la supervision et(ou) à la réalisation des bioessais :

*Personnel du Laboratoire régional
d'Environnement Canada*

Manon Harwood, M. Sc.
Brian Walker, B. Sc.
Édith Francoeur, M. Sc.
Christine Girard, M. Sc.

Personnel Analex inc.

Lyne Paquette, B. Sc.
Jacques Bureau, M. Sc.

Remerciements

Sincères remerciements à M^{me} Monique Simond du groupe d'édition du Centre Saint-Laurent pour la relecture de ce document.

Perspective de gestion

Ce rapport est publié dans le cadre du plan d'action fédéral-provincial Saint-Laurent Vision 2000 (SLV 2000). L'un des objectifs à long terme du plan d'action SLV 2000 est d'éliminer le rejet de substances toxiques persistantes et bioaccumulables dans le Saint-Laurent. Le volet Protection du plan SLV 2000 consiste essentiellement à surveiller la réduction de ces rejets dans les effluents des 50 établissements industriels prioritaires caractérisés au cours du Plan d'action Saint-Laurent (PASL, 1988 à 1993) et à caractériser les eaux usées de 56 autres établissements situés le long du fleuve et de quelques tributaires.

Management Perspective

This report is published under the federal-provincial St. Lawrence Vision 2000 action plan (SLV 2000). One of the objectives of SLV 2000 is the long-term elimination of persistent and bioaccumulable toxic substances in the St. Lawrence River. Through the Protection component of SLV 2000, reductions in toxic discharges will be monitored at the 50 priority industrial plants characterized under the St. Lawrence Action Plan (1988 to 1993). Characterizations will also be conducted at an additional 56 plants located along the St. Lawrence River and a few of its tributaries.

Résumé

Ce rapport présente les résultats de la caractérisation bioanalytique réalisée sur les eaux usées de Norsk Hydro Canada Inc. à Bécancour (Québec). Un ensemble de bioessais couvrant une gamme d'effets toxiques ont été réalisés sur un échantillon d'effluent ainsi que sur un échantillon d'eau d'alimentation. Le potentiel (géo)toxique de l'effluent a été évalué à l'aide de bactéries, d'algues, de microcrustacés et de poissons. Une portion de chaque échantillon a été aérée pendant cinq jours afin de vérifier la persistance des effets observés. L'intégration des données de toxicité et de débit de l'effluent a servi au calcul de l'indice BEEP (Barème d'effets écotoxiques potentiels).

Abstract

This report presents the results of a bioanalysis of the wastewaters collected at Norsk Hydro Canada Inc., Bécancour (Québec). A series of bioassays covering a range of toxicological effects were conducted on a sample of the effluent and on a sample of the intake water. Bacteria, algae, microcrustaceans and fishes were used to assess the (geno)toxic potential of the effluent. A portion of each sample was aerated for five days to determine the persistency of the observed effects. Data on toxicity and effluent flow were combined to determine the Potential Ecotoxic Effects Probe (PEEP) index.

Table des matières

PERSPECTIVE DE GESTION - MANAGEMENT PERSPECTIVE	v
RÉSUMÉ – ABSTRACT	vii
LISTE DES TABLEAUX ET FIGURE	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xi
1 INTRODUCTION	1
2 MÉTHODOLOGIE	2
2.1 Échantillons	2
2.2 Préparation, traitement et subdivision des échantillons	2
2.3 Tests biologiques	4
2.3.1 Aération des échantillons	6
2.3.2 Bioessai avec bactéries luminescentes	8
2.3.3 Bioessai de génotoxicité	9
2.3.4 Bioessai avec algues	11
2.3.5 Bioessai avec microcrustacés	12
2.3.6 Bioessai avec truites	13
2.4 Assurance et contrôle de la qualité	14
3 RÉSULTATS ET DISCUSSION	15
3.1 Formule et calcul de l'indice BEEP	15
3.1.1 Indice BEEP de l'effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	17
3.2 Bioessai avec bactéries luminescentes (<i>V. fischeri</i>)	18
3.3 Bioessai de génotoxicité (<i>E. coli</i> PQ37)	18
3.4 Bioessai avec algues (<i>S. capricornutum</i>)	19
3.5 Bioessai avec microcrustacés (<i>C. dubia</i>)	20
3.6 Bioessai avec truites (<i>O. mykiss</i>)	20
3.7 Résultats de COT, et pH des échantillons aérés	21
3.8 Numération des bactéries hétérotrophes totales	22
3.9 Contrôle de la qualité	22
4 CONCLUSION	24
RÉFÉRENCES	25

Liste des tableaux

1	Paramètres physico-chimiques de l'effluent et de l'eau d'alimentation de Norsk Hydro Canada Inc. : échantillons recomposés au laboratoire	4
2	Caractéristiques descriptives des bioessais utilisés pour l'évaluation écotoxicologique	5
3	Principales conditions d'essai	7
4	Sommaire des résultats des bioessais effectués avec l'effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	16
5	Taux d'inhibition de la luminescence chez <i>V. fischeri</i> : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	18
6	Inhibition de la Pal (cytotoxicité) chez <i>E. coli PQ37</i> et seuil d'effet ponctuel (SEP) : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	19
7	Induction de la β -gal (génotoxicité) chez <i>E. coli PQ37</i> et seuil d'effet ponctuel (SEP) : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	19
8	Taux d'inhibition de la croissance chez <i>S. capricornutum</i> : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	20
9	Résultats de survie et effet sur la reproduction (nombre de nouveau-nés) chez <i>C. dubia</i> : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	21
10	Taux de mortalité à 96 h chez <i>O. mykiss</i> : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.	21
11	Résultats d'analyse des produits toxiques de référence et données statistiques des fiches de contrôle	23

Figure

1	Préparation et division des échantillons en laboratoire	3
---	---	---

Liste des abréviations

A405	absorbance à 405 nm
ACLAE	Association canadienne des laboratoires d'analyse environnementale
ADN	acide désoxyribonucléique
APHA	American Public Health Association
BEEP	barème d'effets écotoxiques potentiels
β -gal	β -galactosidase
B.H.A.A.	bactéries hétérotrophes aérobies et anaérobies facultatives
°C	degré Celsius
CI ₅₀	concentration inhibitrice 50 %
CL ₅₀	concentration létale 50 %
cm	centimètre
CMEO	concentration minimale avec effet observé
CRT	chlore résiduel total
CSE	concentration-seuil d'effet
CSEO	concentration minimale sans effet observé
CV	coefficient de variation
d	jour (<i>dies</i>)
FI	facteur d'induction
FICV	facteur d'induction corrigé pour la viabilité
FR	facteur de réduction
h	heure
L	litre
LIA	limite inférieure d'avertissement
LIS	limite supérieure d'avertissement
log ₁₀	logarithme à la base 10
MEF	ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec
m ³ /h	mètre cube par heure
mg	milligramme
min	minute
mL	millilitre
μ L	microlitre
μ S	microSiemens

NHT	numération hétérotrophes totales
nm	nanomètre
ONPG	2-nitrophényl-β-D-galactoside
Pal	phosphatase alcaline
PASL	Plan d'action Saint-Laurent
% v/v	pourcentage volume sur volume
<i>s</i>	écart type
S9	fraction microsomale de foie de rat
SEP	seuil d'effet ponctuel
SET	seuil d'effet temporel
SLV 2000	Saint-Laurent Vision 2000
UFC	unités formant des colonies
UG _{SC}	unité de génotoxicité sublétales chronique
URL	unité relative de lumière
UT _L	unité de toxicité létale
UT _S	unité de toxicité sublétales
UT _{SA}	unité de toxicité sublétales aiguë
UT _{SC}	unité de toxicité sublétales chronique
UTA/uvb	unité toxique ajustée par unité de volume bioanalytique
UTA/h	unité toxique ajustée heure
\bar{x}	moyenne
<	plus petit

1 Introduction

La présente étude de caractérisation a été entreprise à la demande de la Direction de la protection de l'environnement (Environnement Canada) et du ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec. La supervision et la réalisation des travaux bioanalytiques ont été assumées par la section Écotoxicologie et chimie environnementale du Centre Saint-Laurent.

Le potentiel écotoxique de l'effluent de Norsk Hydro Canada Inc. à Bécancour (Québec) a été évalué à l'aide de l'indice BEEP (Barème d'effets écotoxiques potentiels). Cet indice permet, entre autres, d'évaluer et de comparer la toxicité des rejets industriels. Le concept de l'indice BEEP ainsi que son application sont décrits en détail dans la publication de Costan *et al.* (1993). En bref, les unités BEEP sont déterminées à partir d'une formule (voir 3.1) qui intègre trois variables : *a*) la somme des effets (généto)toxiques; *b*) la multispécificité des effets; et *c*) le débit du ou des effluents étudiés. L'ensemble des résultats des caractérisations BEEP effectuées au cours du PASL (1988 à 1993) a été publié par Bermingham et Boudreau (1994). Ces auteurs ont joint aux résultats des recommandations sur l'orientation et la mise au point de l'indice BEEP.

Le présent rapport de caractérisation bioanalytique ne tient pas compte des résultats des analyses chimiques, des effets sur le milieu récepteur ni des phénomènes de bioaccumulation. De plus, la majorité des bioessais ayant été effectuée sur une portion filtrée à 0,2 µm, la toxicité associée aux matières en suspension a pu être sous-évaluée.

2 Méthodologie

2.1 ÉCHANTILLONS

L'étude de caractérisation a porté sur l'effluent final prélevé à la sortie de l'étang (point 1) et sur l'eau d'alimentation (eau du fleuve). L'échantillonnage a été réalisé par le personnel de Norsk Hydro Canada Inc., sous la supervision du MEF (ministère de l'Environnement et de la Faune du Québec) et, selon les directives du *Guide général de caractérisation SLV 2000* (Environnement Canada, avril 1995). Les échantillons ont été prélevés du 25 au 26 octobre 1995 pour la caractérisation bioanalytique. Au total, sept échantillons de 60 L d'effluent et deux échantillons de 60 L d'eau d'alimentation ont été prélevés sur une période de 24 heures. Les échantillons ont été livrés au Laboratoire régional d'Environnement Canada le jeudi 26 octobre 1995 à 11 h 30 min.

2.2 PRÉPARATION, TRAITEMENT ET SUBDIVISION DES ÉCHANTILLONS

Les échantillons ont été mélangés dès leur réception au laboratoire. La figure 1 illustre la préparation et la division des échantillons d'effluent. La même méthode a été suivie pour l'eau d'alimentation. Une caractérisation physico-chimique sommaire de l'effluent et de l'eau d'alimentation a été réalisée aussitôt les mélanges préparés. À cette fin, la température, le pH, l'oxygène dissous, la conductivité et le chlore résiduel total (CRT) ont été mesurés (tableau 1). Les analyses ont été effectuées selon des méthodes normalisées (APHA *et al.*, 1992) et des protocoles élaborés au Laboratoire régional d'Environnement Canada.

Pour la réalisation des microbioessais, 1 L d'effluent et 1 L d'eau d'alimentation ont été filtrés à 0,2 µm (polycarbonate, Nuclepore™) et conservés à 4 °C. Le pH a été mesuré avant et après la filtration. Des volumes de 8 L ont été prélevés des mélanges «effluent» et «eau d'alimentation» pour la réalisation du bioessai avec microcrustacés. Ces deux sous-échantillons ont été transvidés dans des seaux de plastique blanc opaque de 10 L et conservés à 4 °C jusqu'à leur livraison au laboratoire contractuel. Une portion de 10 L d'effluent et une autre d'eau d'alimentation ont immédiatement été soumises à une aération de cinq jours (voir 2.3.1).

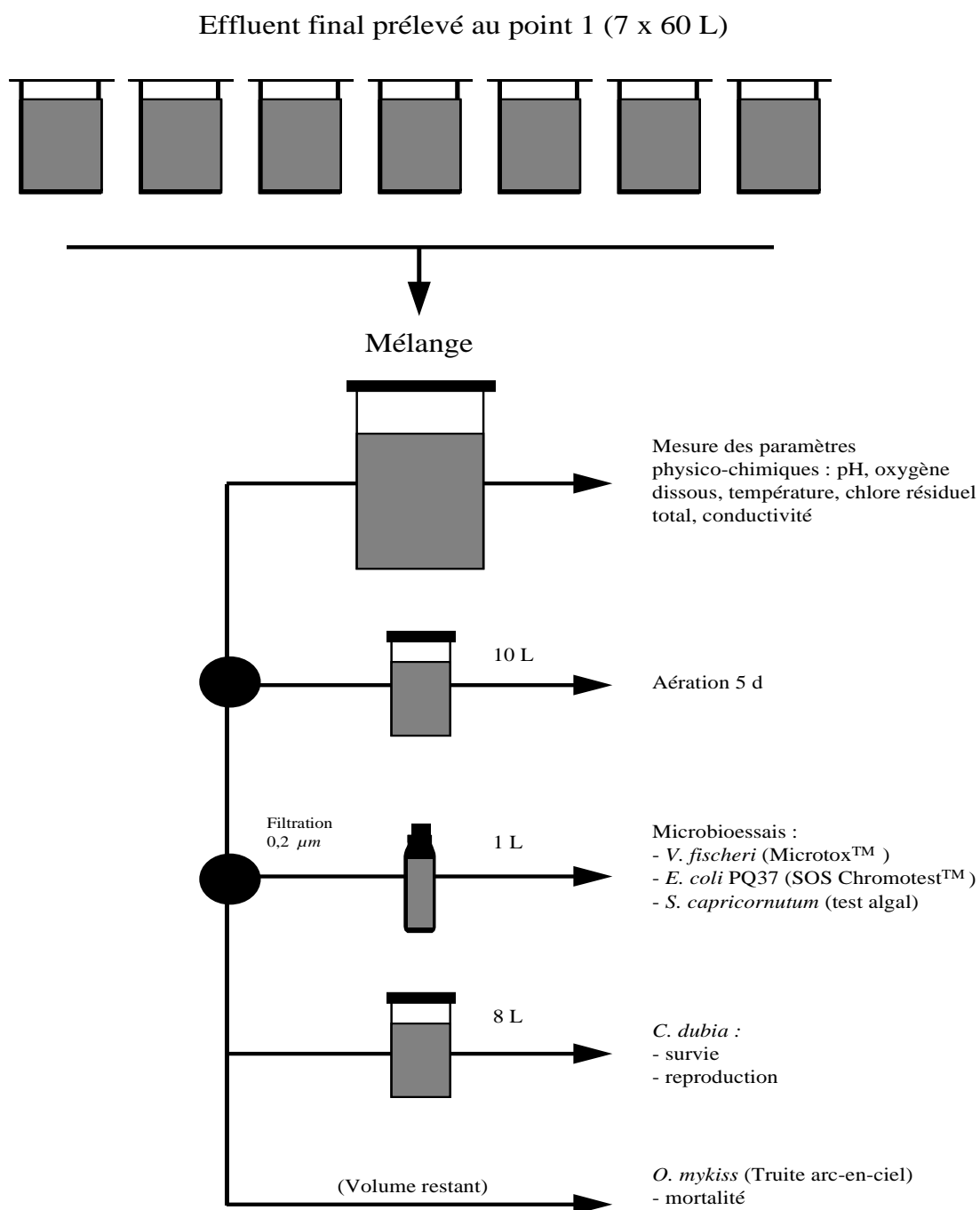


Figure 1 Préparation et division des échantillons en laboratoire

Tableau 1
Paramètres physico-chimiques de l'effluent et de l'eau d'alimentation de
Norsk Hydro Canada Inc. : échantillons recomposés au laboratoire

Paramètre	Effluent	Eau d'alimentation
Température (°C)	17,7	10,0
pH*	7,8 (7,9)	8,0 (8,0)
Oxygène dissous (mg/L)	8,5	11,0
Conductivité (µS/cm)	530	260**
Chlore résiduel total (mg/L)***	< 0,01	< 0,01

* Entre parenthèses, pH après filtration à 0,2 µm.

** Mesuré le 17 janvier 1996 sur une réserve gardée à 4 °C; un résultat de 29 100 µS/cm avait été rapporté dans la feuille de travail.

*** Déterminé par la méthode ampérométrique (Hach™).

2.3 TESTS BIOLOGIQUES

La liste des bioessais réalisés au cours de cette étude est présentée au tableau 2. Comme l'indique ce dernier, les espèces utilisées occupent des échelons trophiques variés : décomposeurs, producteurs primaires et consommateurs primaires et secondaires. Quatre groupes taxonomiques y sont également représentés : bactéries, algues, crustacés et poissons. Lorsque couplée à la détection de différents degrés de toxicité (subléthalité aiguë et chronique et létalité aiguë) et à la mesure de nombreuses variables d'effets (inhibition de croissance et de reproduction, génotoxicité, mortalité), la diversité d'échelons trophiques et d'espèces permet d'évaluer le potentiel écotoxique des rejets d'eaux usées industrielles dans l'environnement aquatique.

Les bioessais du tableau 2 se répartissent en deux groupes : les microbioessais et les macrobioessais. Le premier groupe comprend les essais réalisés avec les bactéries *Vibrio fischeri* (Microtox™) et *Escherichia coli* PQ37 (SOS Chromotest™) et avec la microalgue *Selenastrum capricornutum*. Le second groupe exploite des organismes de plus grande taille, tels des microcrustacés (*Ceriodaphnia dubia*) et des Truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*). Le bioessai avec Truites et les microbioessais ont été effectués par le personnel du Laboratoire régional d'Environnement Canada. Les essais avec microcrustacés ont été réalisés par la firme ECO-CNFS (Pointe-Claire, Québec), un sous-contractant de la firme Analex inc. (Laval).

Tableau 2
Caractéristiques descriptives des bioessais utilisés pour l'évaluation écotoxicologique

Organisme	Espèce	Échelon trophique	Niveau de toxicité	Variable d'effet	Paramètre de mesure*	Unité de mesure*
Bactérie	<i>Vibrio fischeri</i> ** (Microtox™)	Décomposeur	Subléthalité aiguë	Inhibition de la luminescence	CI ₅₀ , CME0, CSEO	UT _{SA}
Bactérie	<i>Escherichia coli</i> PQ37 (SOS Chromotest™)	Décomposeur	Subléthalité chronique	Génotoxicité et cytotoxicité	CME0, CSEO	UG _{SC} , UT _{SC}
Algue	<i>Selenastrum capricornutum</i>	Producteur primaire	Subléthalité chronique	Inhibition de la division cellulaire	CI ₅₀ , CME0, CSEO	UT _{SC}
Cladocère (microcrustacé)	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	Consommateur primaire	Létalité et subléthalité chronique	Mortalité et inhibition de la reproduction	CL ₅₀ , CME0, CSEO	UT _L , UT _{SC}
Poisson	<i>Oncorhynchus mykiss</i> *** (Truite arc-en-ciel)	Consommateur secondaire	Létalité aiguë	Mortalité	CL ₅₀	UT _L

* Voir la liste des abréviations pour leur signification.

** Espèce autrefois connue sous le nom de *Photobacterium phosphoreum*.

*** Espèce autrefois connue sous le nom de *Salmo gairdneri*.

Tous les microbioessais ont été effectués sur une portion originale (non aérée)¹ et sur une portion aérée du mélange d'échantillons (voir 2.3.1). Comme on l'explique à la section 3.1, le calcul de l'indice BEEP nécessite la détermination de la concentration-seuil d'effet (CSE). Cette valeur résulte de la moyenne géométrique de la concentration minimale avec effet observé (CMEO) et de la concentration sans effet observé (CSEO). La CMEO est déterminée par différentes méthodes statistiques, alors que la CSEO correspond à la concentration testée immédiatement sous la CMEO. Cette approche expérimentale exige un minimum de trois à quatre répétitions par concentration testée. Quoique les protocoles expérimentaux de chaque bioessai diffèrent, il n'en demeure pas moins qu'une stratégie commune s'applique à tous. Il s'agit d'exposer, en conditions contrôlées, des organismes vivants à une série de dilutions de l'échantillon, puis à observer et à quantifier les effets toxiques. Les principales conditions d'essai sont présentées au tableau 3. À l'exception du SOS Chromotest™ qui a été exécuté selon un protocole mis au point au Laboratoire régional d'Environnement Canada, tous les autres bioessais ont été réalisés selon les méthodes normalisées d'Environnement Canada.

2.3.1 Aération des échantillons

Les échantillons recomposés d'effluent et d'eau d'alimentation ont été aérés afin d'évaluer la persistance et(ou) les modifications de la toxicité potentielle. Ces transformations peuvent résulter, d'une part, de l'activité microbienne naturellement présente dans l'échantillon et, d'autre part, de phénomènes physico-chimiques liés à l'aération même : volatilisation, oxydation et(ou) modification du pH. La méthode consiste à aérer [$\approx 5 \text{ mL}/(\text{min}/\text{L})$] l'échantillon à la température de la pièce (20 ± 2 °C) pendant cinq jours. Des seaux de plastique blanc opaque sont utilisés comme récipients d'essai. Aucune semence microbienne ni sels nutritifs ne sont ajoutés. Afin de vérifier si l'échantillon renferme une flore bactérienne ou microbienne potentiellement

¹ Dans ce rapport, les termes «portion originale» et «portion non aérée» sont synonymes.

Tableau 3
Principales conditions d'essai

Conditions d'essai	Bioessais (espèces)				
	<i>V. fischeri</i>	<i>E. coli</i> PQ37	<i>S. capricornutum</i>	<i>C. dubia</i>	<i>O. mykiss</i>
Méthode	Statique	Statique	Statique	Renouvellement quotidien	Statique
Provenance des organismes	Microbics ^a	EBPI ^b	UTEX ^c	Paprican ^d	Rainbow Springs (Ontario)
Durée	15 min	2 h	3 d	7 d	4 d
Température (°C)	15 ± 0,3	37 ± 1	24 ± 2	25 ± 1	15 ± 1
Type de récipient	Cuvette de verre 12 × 50 mm	Microplaque 96 puits	Microplaque 96 puits	Gobelet de 30 mL	Récipient en plastique (Rubber Maid™)
Volume par récipient d'essai	1 mL	200 µL	200 µL	15 mL	60 L
Photopériode lumière/obscurité (h)	s.o.	s.o.	24/0	16/8	16/8
Nombre de concentrations testées	6	4	10	5	6
Nombre de répétitions par concentration	4	4	3	10	1
Nombre d'organismes par récipient d'essai	10 µL de réactif bactérien	3 × 10 ⁶	10 000	1	9

^a Microbics Corp. (Carlsbad, Californie).

^b Environmental Bio Detection Products (Brampton, Ontario).

^c Université du Texas (souche 1648).

^d Institut de recherche sur les pâtes et papiers (Pointe-Claire, Québec).

s.o. = sans objet.

capable d'assurer la biodégradation, on procède à une numération des bactéries hétérotrophes totales (Gouvernement du Québec, 1992a). Le degré de biodégradation est déterminé en mesurant la concentration de carbone organique total (COT) au début et à la fin de l'essai. Une portion aliquote de 1 L de l'échantillon aéré est également filtrée à 0,2 µm pour la réalisation des microbioessais.

2.3.2 Bioessai avec bactéries luminescentes

2.3.2.1 Méthode

L'essai avec la bactérie marine *Vibrio fischeri* (souche NRRL B-11177) a été réalisé essentiellement selon la méthode d'Environnement Canada (1992a). Certaines modifications ont été apportées au nombre de concentrations et de répétitions testées ainsi qu'à l'emplacement des cuvettes dans l'incubateur du photomètre. L'essai avec *V. fischeri* est commercialisé sous le nom Microtox™ par la compagnie Microbics (Carlsbad, Californie). Ce biotest repose sur la capacité de *V. fischeri* à émettre de la lumière, un processus métabolique qui implique une série d'enzymes, dont la luciférase (Woodland Hastings *et al.*, 1985). L'essai Microtox™ offre une excellente concordance avec de nombreux autres bioessais (Kaiser et Palabrica, 1991). Les effets toxiques mesurés à l'aide de la bactérie *V. fischeri* sont de type sublétaux aigus : *a*) l'inhibition de luminescence n'indique pas nécessairement la mort cellulaire; *b*) la période de contact entre les bactéries exposées et l'échantillon n'est que de 15 minutes; et *c*) l'essai est réalisé sur une population plutôt que sur plusieurs générations.

2.3.2.2 Traitement des données

L'intensité lumineuse des groupes traités et du groupe témoin est mesurée avec un photomètre (Microtox™ Toxicity Analyzer, modèle M500). Ces mesures sont exprimées en unités relatives de lumière (URL). La quantité de lumière émise par les bactéries dans chacune des concentrations testées est comparée avec celle mesurée dans le témoin. Les pourcentages d'inhibition et les valeurs gamma (γ , rapport lumière perdue/lumière restante) sont ensuite calculés afin de déterminer les paramètres de mesure. Il s'agit de la CME0, qui est déterminée par le test de Mann-

Whitney, et de la CI_{50} (concentration qui inhibe 50 % de l'activité lumineuse), qui est calculée par régression linéaire simple selon l'équation :

$$Y = a + bX$$

où Y : $\log_{10}(\gamma)$; X : \log_{10} (% v/v); a : ordonnée à l'origine; et b : pente (Zar, 1984).

Tous les calculs sont effectués à l'aide d'une feuille de travail élaborée avec un chiffrier électronique (Lotus 123™, version 2.4). Les paramètres de mesure sont rapportés en unités sublétales aiguës (UT_{SA}). Les unités toxiques se calculent en divisant le nombre 100 par le paramètre de mesure exprimé en % v/v. Par exemple, si la CMEO est de 5 % v/v, le résultat sera de 20 UT_{SA} . Le calcul des unités toxiques est le même, peu importe le niveau de toxicité, qu'il soit létal, sublétal ou chronique. Pour que la CMEO soit significative, le pourcentage de réduction de luminescence qui y est associé doit être égal ou supérieur au seuil de détection de la méthode. Ce seuil a été déterminé expérimentalement et est fixé à 10 % d'inhibition.

2.3.3 Bioessai de génotoxicité

2.3.3.1 Méthode

Le bioessai utilisé pour dépister les substances génotoxiques est commercialisé sous l'appellation SOS Chromotest™ par la compagnie Environmental Bio Detection Products (EBPI, Brampton, Ontario). Ce bioessai a été réalisé selon un protocole mis au point au laboratoire régional d'Environnement Canada (1993). Le SOS Chromotest™ est un essai colorimétrique à court terme utilisé pour détecter les substances qui provoquent des lésions primaires à l'ADN chez *Escherichia coli* PQ37. Chez cette bactérie, le gène *lacZ* qui code pour la β -galactosidase (β -gal) et le gène *sulA* ont été fusionnés par manipulation génétique (Quillardet et Hofnung, 1985). Le gène *sulA* appartient au système SOS, un mécanisme de réparation de l'ADN sujet à erreurs (Walker, 1987; Devoret, 1992). Lorsque l'ADN bactérien est agressé par un produit chimique génotoxique, le gène *sulA* est activé, entraînant ainsi la synthèse de l'enzyme β -gal. La région *lacZ* normale ayant été retirée du génome de

la souche *E. coli* PQ37, la production de β -gal résulte donc directement d'agressions à l'ADN. La souche *E. coli* PQ37 porte également un gène constitutif (non réprimé) pour la phosphatase alcaline (Pal). Cette enzyme est utilisée comme un indicateur de la synthèse protéique totale, et son dosage permet de déterminer le degré de cytotoxicité ou de perte de viabilité cellulaire. Les concentrations relatives de β -gal et de Pal sont mesurées après l'ajout de leur substrat respectif. Dans les deux cas, le produit de l'hydrolyse des substrats est de couleur jaune. Une agression génotoxique intensifiera donc la couleur, alors qu'une activité cytotoxique l'atténuera.

Les essais SOS Chromotest™ sont réalisés avec et sans un mélange d'activation mammalien. Ce mélange comprend la fraction microsomale (S9) de foie de rats traité à l'Aroclor 1254 et des cofacteurs. La fraction S9 renferme notamment le cytochrome P-450 qui joue normalement un rôle de détoxification dans le foie, mais qui à l'occasion peut aussi activer le potentiel mutagène ou cancérogène des substances chimiques (De Robertis et De Robertis, 1983). L'utilisation de S9 permet donc la détection de substances dites «progénotoxiques», c'est-à-dire de molécules qui une fois métabolisées ont le potentiel d'endommager le matériel génétique. Pour vérifier l'intégrité des fonctions SOS chez *E. coli* PQ37, des génotoxiques de référence sont testés à chaque essai. Il s'agit de la nitro-4 quinoléine-*n*-oxyde (en anglais, 4-nitroquinoline-*n*-oxide ou 4NQO) pour les tests sans S9 et de l'amino-2 anthracène (en anglais, 2-aminoanthracene ou 2AA) pour les tests avec S9.

2.3.3.2 *Traitement des données*

Les concentrations relatives de Pal et de β -gal sont lues à 405 nm (A405) avec un spectrophotomètre à microplaque (Multiskan™, modèle MCC340). Les moyennes \bar{x} , écarts types (*s*) et coefficients de variation (CV) des valeurs d'absorbance des groupes traités et témoins sont d'abord calculés. Les facteurs de réduction (FR) de la Pal, les facteurs d'induction (FI) de la β -gal, ainsi que les facteurs d'induction corrigés pour la viabilité (FICV) sont ensuite déterminés. Les FR et FI se calculent selon la même formule : \bar{x} A405 de l'échantillon traité / \bar{x} A405 du témoin. Les FICV déterminés à partir du rapport FI/FR servent à normaliser les concentrations relatives de β -gal en fonction de la perte de viabilité.

Chez les groupes témoins, la limite inférieure et la limite supérieure de l'intervalle de confiance à 95 % des lectures A405 sont établies (voir les formules ci-après) afin de fixer les seuils d'effets ponctuels (SEP) de la Pal et de la β -gal.

$$\text{SEP de la Pal} = (\bar{x} \text{ A405} - 2 s) / \bar{x} \text{ A405}$$

$$\text{SEP de la } \beta\text{-gal} = (\bar{x} \text{ A405} + 2 s) / \bar{x} \text{ A405}$$

Les valeurs SEP représentent la variabilité observée la journée même de l'essai. Afin de tenir compte de la variabilité dans le temps, des seuils d'effets temporels (SET) ont été définis en calculant les moyennes historiques des valeurs SEP de la Pal et de la β -gal. Ainsi, le SET de la Pal a été fixé à 0,90, et celui de la β -gal, à 1,20. Pour la *cytotoxicité*, la plus petite des valeurs entre le SEP et le SET est retenue pour déterminer la CMEO. Pour la *génotoxicité*, la plus grande des valeurs entre le SEP et le SET est choisie pour établir la CMEO. Les SEP et les SET constituent donc les limites de détection de la cytotoxicité et de la génotoxicité. L'interprétation des résultats de génotoxicité est d'abord effectuée à partir des valeurs FI. Lorsqu'une valeur FI parmi les concentrations analysées répond au critère stipulé précédemment, les FICV sont alors rapportés et utilisés pour fixer la CMEO. Selon la variable d'effet, les paramètres de mesure sont exprimés en unités toxiques (UT_{SC}) ou en unités génotoxiques (UG_{SC}) sublétales chroniques. Le traitement des données est effectué à l'aide d'une feuille de travail élaborée avec un chiffrier électronique (Quattro Pro™, version 3). À noter que l'indice BEEP ne tient compte que du critère d'effet *génotoxicité*.

2.3.4 Bioessai avec algues

2.3.4.1 Méthode

Le bioessai avec algues a été réalisé en microplaque de 96 puits selon la méthode mise au point par Environnement Canada (1992b). Soumise à une étude d'intercalibration (Thellen *et al.* 1989), cette méthode ou technique est adoptée maintenant dans de nombreux laboratoires. L'algue *Selenastrum capricornutum*, l'espèce utilisée, appartient à l'ordre des Chlorophycées. C'est une algue verte non mobile et unicellulaire qui abonde dans les eaux douces presque partout en Amérique du

Nord. Comme producteurs primaires, les algues jouent un rôle vital dans la chaîne alimentaire. Elles servent de nourriture à de nombreux organismes (par exemple les daphnies), et leurs sécrétions et leur activité photosynthétique participent de façon importante à l'apport d'éléments nutritifs et d'oxygène au milieu aquatique (Bold et Wynne, 1978). Par contre, lorsqu'elles sont trop abondantes, les algues peuvent entraîner l'eutrophisation des plans d'eau. *S. capricornutum* est particulièrement sensible aux métaux. Par exemple, les concentrations inhibitrices 50 % (CI₅₀) du cadmium, du cuivre, du nickel et du zinc sont inférieures à 100 µg/L (Blaise *et al.*, 1986; St-Laurent *et al.*, 1992).

2.3.4.2 Traitement des données

Le nombre de cellules est déterminé par comptage électronique (Coulter™, modèle ZM). Les pourcentages d'inhibition de croissance sont d'abord déterminés, puis la CI₅₀ et la CME0 sont calculées. La CI₅₀ est estimée par régression linéaire simple, tandis que la CME0 est déterminée par le test de Mann-Whitney. Le pourcentage d'inhibition associé à la CME0 doit cependant être égal ou supérieur à 20, ce qui représente la limite de détection pour cet essai. Les résultats sont exprimés en unités de toxicité sublétales chroniques (UT_{SC}).

2.3.5 Bioessai avec microcrustacés

2.3.5.1 Méthode

La méthode d'Environnement Canada (1992c) a été appliquée pour ce bioessai. Le microcrustacé *Ceriodaphnia dubia* appartient à l'ordre des Cladocères et à la famille des Daphniidés. Ce microcrustacé représente un maillon important de la chaîne alimentaire puisqu'il convertit les algues et les bactéries en protéines animales. Il se retrouve en abondance dans les plans d'eau douce d'Amérique du Nord où il constitue une source essentielle de nourriture pour les poissons. Ce bioessai donne à la fois une indication de la sévérité des effets létaux (survie) et des effets sublétaux chroniques (reproduction). En raison de sa sensibilité, cette espèce est couramment utilisée pour caractériser la toxicité des effluents industriels (EPA, 1989; Ankley *et al.*, 1990; Mazidji *et al.*, 1990).

2.3.5.2 Traitement des données

Les jeunes crustacés (nouveau-nés) ainsi que les organismes morts sont comptés quotidiennement. Les effets sur la survie sont quantifiés par la CL_{50} et la CMEO, et ceux sur la reproduction, par la CMEO uniquement. Les méthodes statistiques appliquées pour déterminer ces paramètres de mesure varient selon les résultats observés. Ainsi, la CL_{50} peut être déterminée par trois techniques : probit, moyenne mobile et binomiale. Une analyse de comparaison intergroupes (par exemple Dunnett, Bonferroni, Tukey, Williams) est utilisée lorsque les données suivent une distribution normale et que les variances sont homogènes. Lorsque ces deux dernières conditions ne sont pas respectées, une analyse non paramétrique (par exemple Wilcoxon, Steel Many-One Rank) est appliquée. La version 3.11 (1985) du programme de C.E. Stephan (1977) sert au calcul de la CL_{50} , tandis que le logiciel Toxstat[®] (Gulley *et al.*, 1991) est utilisé pour la détermination de la CMEO. Les résultats sont rapportés en unités de toxicité létale (UT_L) pour la survie et en unités de toxicité sublétale chronique (UT_{SC}) pour la reproduction.

2.3.6 Bioessai avec truites

2.3.6.1 Méthode

Le bioessai avec la Truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) a été réalisé selon les méthodes d'Environnement Canada (1990a; 1990b). *O. mykiss* est une espèce qui appartient à la famille des Salmonidés, et son aire de distribution couvre tout le pays. La sensibilité des Salmonidés aux contaminants aquatiques est reconnue. Les essais avec truites servent normalement à mesurer les effets létaux aigus. Toutefois, depuis quelques années, on utilise les Salmonidés dans des recherches qui portent sur la mise en évidence d'effets sublétaux indicateurs de stress (Gagné et Blaise, 1993). La Truite arc-en-ciel sert d'espèce étalon pour l'application des lois et des règlements (Gouvernement du Québec, 1992b; Gouvernement du Canada, 1992).

2.3.6.2 Traitement des données

Des lectures de mortalité sont effectuées quotidiennement, et le nombre de poissons morts par concentration testée est comptabilisé à la fin de l'essai. Le choix de la méthode statistique pour évaluer la CL_{50} , qui est rapportée en unités de toxicité létale (UT_L), dépend des données obtenues, par exemple :

- a) la méthode probit est utilisée lorsque plusieurs concentrations produisent des taux de mortalité de moins de 100 %;
- b) la méthode de la moyenne mobile est appliquée lorsqu'une seule concentration produit un taux de mortalité de moins de 100 %;
- c) la méthode binomiale sert lorsque des concentrations voisines produisent des taux de mortalité de 0 % et de 100 %.

Une version du programme de C.E. Stephan, obtenue du laboratoire d'Environnement Canada de la région de l'Atlantique, est utilisée pour le traitement des données. Les résultats de l'essai avec Truites n'ont pas servi au calcul de l'indice BEEP. Les essais avec Truites ont été réalisés pour mettre au point des techniques bioanalytiques et sont présentés dans ce rapport à titre d'information seulement.

2.4 ASSURANCE ET CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Le souci de générer des résultats de qualité est partagé par tout le personnel du Laboratoire régional d'Environnement Canada. De plus, les laboratoires contractuels auxquels des analyses sont confiées doivent faire la preuve qu'ils appliquent un programme d'assurance et de contrôle de la qualité et qu'ils sont accrédités par un organisme officiel (par exemple le MEF, l'ACLAE). La qualité des résultats des bioessais est assurée, entre autres, par l'application de modes opératoires normalisés, la participation à des essais interlaboratoires, l'utilisation de produits toxiques de référence et la mise à jour de fiches de contrôle (Environnement Canada, 1990c).

3 Résultats et discussion

Un sommaire des résultats des bioessais effectués avec l'effluent de Norsk Hydro Canada Inc. est présenté au tableau 4. Les résultats spécifiques à chacun des bioessais sont ensuite brièvement discutés et présentés dans des tableaux indiquant les dates de début d'analyse. Seuls les résultats qui se rapportent à l'effluent sont présentés dans les tableaux. Les résultats relatifs à l'eau d'alimentation sont discutés dans le texte.

3.1 FORMULE ET CALCUL DE L'INDICE BEEP

Afin de permettre la comparaison des indices BEEP générés au cours du PASL à ceux qui seront obtenus au cours de SLV 2000, seuls les résultats des bioessais réalisés avec *V. fischeri*, *E. coli* PQ37 (génotoxicité uniquement), *S. capricornutum* et *C. dubia* ont servi au calcul de l'indice BEEP.

Cet indice est déterminé à partir des concentrations-seuils d'effets (CSE) qui sont présentées au tableau 4. Lorsqu'une CSE «plus petite que» est rapportée (par exemple < 2), on lui attribue alors la valeur zéro (0). Le calcul de l'indice BEEP s'effectue selon la formule suivante :

$$BEEP = \log_{10} \left\{ l + n \left(\frac{\sum_{i=1}^N T_i}{N} \right) Q \right\}$$

où

\log_{10} : logarithme à la base 10;

l : nombre ajouté de manière à ne pas avoir de valeur négative;

n : nombre de bioessais ayant démontré un effet cytotoxique ou génotoxique;

N : nombre total de bioessais utilisés pour calculer l'indice;

ΣT_i : somme des CSE des portions non aérées et aérées;

Q : débit en mètres cubes à l'heure (m^3/h). Lorsque plusieurs émissaires sont échantillonnés, la valeur Q correspond au total des débits mesurés au moment de la caractérisation bioanalytique.

Tableau 4
Sommaire des résultats des bioessais effectués avec l'effluent de
Norsk Hydro Canada Inc.

Bioessai	Unité de mesure	Paramètre de mesure	Effluent	
			non aéré	aéré
<i>V. fischeri</i>	UT _{SA}	CI ₅₀	< 2	< 2
		CMEO	< 2	< 2
		CSEO	2	2
		CSE	< 2	< 2
<i>E. coli</i> PQ37 (- S9) Génotoxicité	UG _{SC}	CMEO	< 2	< 2
		CSEO	2	2
		CSE	< 2	< 2
<i>E. coli</i> PQ37 (+ S9) Génotoxicité	UG _{SC}	CMEO	< 2	< 2
		CSEO	2	2
		CSE	< 2	< 2
<i>E. coli</i> PQ37 (- S9) Cytotoxicité *	UT _{SC}	CMEO	< 2	< 2
		CSEO	2	2
		CSE	< 2	< 2
<i>E. coli</i> PQ37 (+ S9) Cytotoxicité *	UT _{SC}	CMEO	< 2	< 2
		CSEO	2	2
		CSE	< 2	< 2
<i>S. capricornutum</i>	UT _{SC}	CI ₅₀	< 1	< 1
		CMEO	< 1	< 1
		CSEO	1	1
		CSE	< 1	< 1
<i>C. dubia</i> Survie	UT _L	CL ₅₀	< 1	n.t.
		CMEO	< 1	n.t.
		CSEO	1	n.t.
		CSE	< 1	n.t.
<i>C. dubia</i> Reproduction	UT _{SC}	CMEO	< 1	n.t.
		CSEO	1	n.t.
		CSE	< 1	n.t.
<i>O. mykiss</i> *	UT _L	CL ₅₀	< 1	n.t.

* Résultats non intégrés dans le calcul de l'indice BEEP.

n.t. = non testé.

L'indice BEEP se compose en fait de deux mesures. Il s'agit de la toximesure et de la toxicharge dont les formules apparaissent ci-après. La première représente l'importance relative de l'étendue de l'intensité toxique et exprime, en Unité Toxique Ajustée par unité de volume bioanalytique (UTA/uvb), la concentration des substances potentiellement biodisponibles. La deuxième, qui est le produit de la toximesure par le débit et qui s'exprime en UTA/h, permet d'évaluer la contribution relative d'un effluent à la toxicité de l'ensemble des industries (Bermingham et Boudreau, 1994).

$$Toximesure = n \left(\frac{\sum_{i=1}^N T_i}{N} \right)$$

$$Toxicharge = n \left(\frac{\sum_{i=1}^N T_i}{N} \right) Q$$

3.1.1 Indice BEEP de l'effluent Norsk Hydro Canada Inc.

Durant la période d'échantillonnage pour les bioessais, le débit de l'effluent final (point 1) atteignait 1052,1 m³/d (communiqué, Norsk Hydro Canada Inc.). À partir des données présentées au tableau 4 et du débit mesuré, on obtient une toximesure de < 0,1 UTA/uvb, une toxicharge de < 4 UTA/h et un indice BEEP de < 0,7 lorsque $n = 1$; $N = 10$; $\sum T_i = 1$; et $Q = 43,8 \text{ m}^3/\text{h}$. À noter que l'on accorde aux termes n et $\sum T_i$ la valeur de 1, respectivement, lorsqu'aucune toxicité apparente n'est décelée, c'est-à-dire lorsque tous les résultats ou paramètres de mesure servant au calcul de l'indice BEEP sont inférieurs aux plus fortes concentrations testées. De cette manière, il est possible d'établir la limite de détection de l'indice BEEP pour l'effluent concerné.

3.2 BIOESSAI AVEC BACTÉRIES LUMINESCENTES (V. FISCHERI)

Comme l'indiquent les résultats du tableau 5, ni la portion non aérée ni la portion aérée n'ont été toxiques pour *V. fischeri*. Au contraire, une légère stimulation de la luminescence a été observée dans toutes les concentrations de l'effluent. L'eau d'alimentation n'a également entraîné aucune baisse significative de l'activité lumineuse.

Tableau 5
Taux d'inhibition de la luminescence chez *V. fischeri* :
effluent de Norsk Hydro Canada Inc.

Concentration (% v/v)	Taux d'inhibition (%)*	
	Effluent non aéré (analyse du 26-10-1995)	Effluent aéré 5 d (analyse du 31-10-1995)
50	- 2,1	-10,6
25	- 1,9	- 7,1
12,5	- 0,9	- 3,2
6,25	- 0,8	- 5,9
3,13	- 0,7	-2,4
1,57	- 0,4	- 4,6

* Les valeurs négatives indiquent une stimulation de la luminescence plutôt qu'une inhibition.

3.3 BIOESSAI DE GÉNOTOXICITÉ (*E. COLI* PQ37)

Comme en témoignent les résultats des tableaux 6 et 7, les portions non aérée et aérée de l'effluent ne se sont pas révélées cytotoxiques et ni génotoxiques pour *E. coli* PQ37. Les résultats rapportés aux tableaux 6 et 7 proviennent d'un essai effectué le 16 novembre 1995, un premier essai réalisé le 1^{er} novembre 1995 a du être repris car des problèmes avec le dosage de la phosphatase alcaline ont été rencontrés. Néanmoins, les deux essais ont démontré que la β -galactosidase, qui exprime la génotoxicité, n'était pas induite. L'eau d'alimentation ne s'est révélée ni toxique ni génotoxique.

Tableau 6
Inhibition de la Pal (cytotoxicité) chez *E. coli* PQ37 et seuil d'effet ponctuel (SEP) :
effluent de Norsk Hydro Canada Inc.

Concentration (% v/v)	Facteur de réduction (FR)			
	Effluent non aéré (analyse du 16-11-1995)		Effluent aéré 5 d (analyse du 16-11-1995)	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9
50	1.15	0,98	1,02	1,00
25	1.12	0,98	1,00	0,98
12,5	1.05	0,95	1,05	1,00
6,25	1.02	0,99	1,05	0,99
<i>Seuil d'effet ponctuel (SEP)*</i>	<i>0,96</i>	<i>0,87</i>	<i>0,95</i>	<i>0,93</i>

* Le *seuil d'effet temporel (SET)* pour la cytotoxicité avec et sans S9 est de 0,90. La valeur la plus petite entre le *SEP* et le *SET* est sélectionnée pour déterminer la CME0 (voir 2.3.3.2).

Tableau 7
Induction de la β -gal (génotoxicité) chez *E. coli* PQ37 et seuil d'effet ponctuel (SEP) :
effluent de Norsk Hydro Canada Inc.

Concentration (% v/v)	Facteur d'induction corrigé pour la viabilité (FICV)			
	Effluent non aéré (analyse du 16-11-1995)		Effluent aéré 5 d (analyse du 16-11-1995)	
	- S9	+ S9	- S9	+ S9
50	1,06	1,02	0,95	1,11
25	1,01	1,00	0,97	1,10
12,5	1,03	1,04	0,96	1,03
6,25	1,04	1,01	0,97	1,01
<i>Seuil d'effet ponctuel (SEP)*</i>	<i>1,14</i>	<i>1,10</i>	<i>1,16</i>	<i>1,10</i>

* Le *seuil d'effet temporel (SET)* pour la génotoxicité avec et sans S9 est de 1,20. La valeur la plus élevée entre le *SEP* et le *SET* est sélectionnée pour déterminer la CME0 (voir 2.3.3.2).

3.4 BIOESSAI AVEC ALGUES (*S. CAPRICORNUTUM*)

L'effluent (tableau 8) ainsi que l'eau d'alimentation ont provoqué une forte stimulation de la croissance des algues. En effet, des taux de stimulation supérieurs à 200 % ont été observés dans la

portion non aérée des deux échantillons. Des substances nutritives, tels les phosphates, les composés azotés, les nitrites, les nitrates ainsi que des micronutriments, sont soupçonnées d'avoir favorisé la multiplication des cellules. Puisque le potentiel de fertilisation de l'eau d'alimentation (eau du fleuve) s'est révélé tout aussi élevé que celui de l'effluent, l'impact de ce dernier sur le milieu récepteur en matière d'eutrophisation peut donc être considéré nul ou tout au moins neutre.

Tableau 8
Taux d'inhibition de la croissance chez *S. capricornutum* :
effluent de Norsk Hydro Canada Inc.

Concentration (% v/v) **	Taux d'inhibition (%)*	
	Effluent non aéré (analyse du 27-10-1995)	Effluent aéré 5 d (analyse du 03-11-1995)
100	- 255	- 171
50	- 252	- 145
25	- 237	- 155
12,5	- 208	- 133
6,25	- 82	- 52
3,13	- 30	- 40

* Les valeurs négatives indiquent une stimulation de la croissance plutôt qu'une inhibition.

** Il s'agit des concentrations initiales; l'ajout de l'inoculum enrichi représente un facteur de dilution d'environ 10 %.

3.5 BIOESSAI AVEC MICROCRUSTACÉS (*C. DUBIA*)

Comme le montrent les résultats du tableau 9, la survie de *C. dubia* n'a pas été affectée par l'effluent. On note également au même tableau que les concentrations de 25, 50 et 100 % v/v ont significativement favorisé la reproduction des organismes exposés. L'eau d'alimentation n'a révélé aucune toxicité significative pour *C. dubia*.

3.6 BIOESSAI AVEC TRUITES (*O. MYKISS*)

L'effluent de Norsk Hydro Canada Inc. n'a engendré aucune toxicité pour la Truite arc-en-ciel (tableau 10). Il en a été de même pour l'eau d'alimentation.

Tableau 9
Résultats de survie et effet sur la reproduction (nombre de nouveau-nés) chez
***C. dubia* : effluent de Norsk Hydro Canada Inc.**

Concentration (% v/v)	Effluent non aéré (analyse du 31-10-1995)	
	Nombre de morts	Nombre de nouveau-nés
100	0/10	249
50	0/10	259
25	0/10	240
12,5	0/9	201
6,25	0/10	209
Témoin	0/10	206

Tableau 10
Taux de mortalité à 96 h chez *O. mykiss* :
effluent de l'usine Norsk Hydro Canada Inc.

Concentration (% v/v)	Taux de mortalité (%) (analyse du 27-10-1995)
100	0
75	11 (1 sur 9)
50	0
25	0
10	0
1	0
Témoin	0

3.7 RÉSULTATS POUR LE COT, ET pH DES ÉCHANTILLONS AÉRÉS

Les résultats d'analyse du COT révèlent que l'effluent (4,7 mg/L) et l'eau d'alimentation (4,6 mg/L) étaient peu chargés en matières organiques. Les teneurs en COT après aération ont été de 4,2 mg/L pour l'effluent et de 4,5 mg/L pour l'eau d'alimentation. Le pH de l'effluent aéré a été de 8,1, soit une hausse de 0,3 unité par rapport à la valeur mesurée au début du traitement aérobie. Le pH de l'eau d'alimentation aérée a été de 8,2, alors qu'il était de 8,0 au départ.

3.8 NUMÉRATION DES BACTÉRIES HÉTÉROTROPHES TOTALES

Les portions non aérée et aérée de l'effluent ont révélé des comptes de $6,3 \times 10^5$ et de $6,2 \times 10^5$ UFC/mL, respectivement. La portion non aérée d'eau d'alimentation a affiché un compte de $3,2 \times 10^4$ UFC/mL et sa contre partie aérée, un compte de $7,4 \times 10^2$ UFC/mL. Comme on peut le constater, le nombre de bactéries dans l'effluent est demeuré essentiellement le même après le traitement aérobie, tout comme il en a été pour les teneurs en COT. En revanche, une baisse assez marquée de la population bactérienne est survenue dans l'eau d'alimentation. Cependant, avec l'information en main, il est difficile d'expliquer ces phénomènes. Des agents bactériostatiques pourraient être en cause.

3.9 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ

Les résultats des essais effectués avec des produits toxiques de référence sont présentés au tableau 11. Ce dernier indique : *a)* le produit utilisé; *b)* la date d'analyse du produit, c'est-à-dire celle qui se rapproche le plus des essais effectués sur les échantillons; *c)* le résultat obtenu à cette date d'analyse; *d)* les données statistiques de la fiche de contrôle, qui comprennent la moyenne, la limite inférieure (LIA) et la limite supérieure (LSA) d'avertissement. La LIA correspond à la moyenne dont on a soustrait deux écarts types, alors que la LSA représente la moyenne à laquelle on a ajouté deux écarts types (Environnement Canada, 1990c). À noter que pour le SOS Chromotest™, la LIA et la LSA correspondent à des limites empiriques plutôt qu'à des limites statistiques.

Les résultats des essais effectués avec les produits toxiques de référence montrent que la sensibilité des organismes et la reproductibilité des essais mêmes se situent à l'intérieur des limites historiques.

Tableau 11
Résultats d'analyse des produits toxiques de référence et données statistiques des fiches de contrôle

Bioessai	Variable mesurée	Paramètre et unité de mesure	Substance testée	Date d'analyse de la substance	Résultat de l'analyse	Données des fiches de contrôle		
						Moyenne	LIA	LSA
<i>V. fischeri</i>	Inhibition de la luminescence	CI ₅₀ mg/L Zn ⁺⁺	Sulfate de zinc	03-10-95	1,17	1,26	0,31	2,21
<i>E. coli</i> PQ37	Génotoxicité	SOSIP *	4NQO (-S9)	16-11-95	67	50	30	70
		SOSIP	2AA (+S9)		4,5			
<i>S. capricornutum</i>	Inhibition de la croissance	CI ₅₀ mg/L	NaCl	15-09-95	1904	2090	1638	2543
<i>C. dubia</i> **	Survie	CL ₅₀ mg/L	NaCl	05-09-95	2800	Non rapporté	2200	3100
	Inhibition de la reproduction	CI ₂₅ mg/L			700			
<i>O. mykiss</i>	Survie	CL ₅₀ mg/L Zn ⁺⁺	Sulfate de zinc	06-11-95	0,40	0,51	0,12	0,90

* Pente de la concentration-réponse, où les FICV représentent la variable dépendante (Y), et où la variable indépendante (X) est exprimée en nanomoles.

** LIA et LSA de la fiche de contrôle de la compagnie ECO-CNFS Inc.

4 Conclusion

L'effluent de Norsk Hydro Canada Inc. à Bécancour ne s'est pas révélé toxique pour les organismes utilisés dans cette étude. Ainsi, aucun effet délétère n'a été détecté avec le Microtox™, le SOS Chromotest™, le test algal (*S. capricornutum*), le bioessai avec microcrustacés (*C. dubia*) et le bioessai avec la Truite arc-en-ciel (*O. mykiss*). Exprimé par l'indice BEEP, le potentiel écotoxique de l'effluent de Norsk Hydro Canada Inc. est inférieur à 0,7 (< 0,7), valeur significativement inférieure à la moyenne des indices BEEP des 49 usines évaluées au cours du PASL (Bermingham et Boudreau, 1994).

Il est à noter que la majorité des bioessais ont été réalisés sur un échantillon filtré à 0,2 µm, et que les effets dus aux substances adsorbées aux matières en suspension peuvent avoir été sous estimés (White *et al.*, 1995a; 1995b). À cet égard, on a observé au moment de la préparation du mélange des échantillons que l'effluent était légèrement turbide. Les résultats des analyses physico-chimiques pourront être consultés pour vérifier cette observation.

Bien qu'aucun seuil BEEP n'ait encore été fixé pour indiquer un niveau de préoccupation moindre, tout porte à croire qu'un indice de 3,0 ou moins traduirait une situation non inquiétante à court terme. Présentement, l'utilité de l'indice BEEP réside surtout dans sa capacité à relativiser les sources de pollution entre elles pour des besoins de gestion environnementale (Bermingham et Boudreau, 1994).

Références

- Ankley, G.T., G.S. Peterson, J.R. Amato et J.J. Jenson (1990). «Evaluation of sucrose as an alternative to sodium chloride in the Microtox assay: Comparison to fish and cladocerans tests with freshwater effluents». *Environmental Toxicology and Chemistry*, (9) : 1305-1310.
- APHA, AWWA et WEF (1992). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 18th Edition.
- Bermingham, N. et D. Boudreau (1994). *Synthèse de l'application du barème d'effets écotoxiques potentiels (BEEP) et recommandations d'orientation pour son développement*. Environnement Canada, région du Québec, Conservation de l'environnement, Centre Saint-Laurent. Rapport technique et scientifique, 30 p.
- Blaise, C., R. Legault, N. Bermingham, R. Van Collie et P. Vasseur (1986). «A simple microplate algal assay technique for aquatic toxicity assessment». *Toxicity Assessment* (1) : 261-281.
- Bold, H.C. et M.J. Wynne (1978). *Introduction to the Algae: Structure and Reproduction*. Prentice-Hall Inc., Englewood NJ. ISBN 0-13-477786-7, chapitre 1.
- Costan, G., N. Bermingham, C. Blaise et J.-F. Féraud (1993). «Potential ecotoxic effects probe: A novel index to assess and compare the toxic potential of industrial effluents». *Environmental Toxicology and Water Quality*, 8 (2) : 115-140.
- De Robertis, E.P.D. et E.M.F. De Robertis fils (1983). *Biologie cellulaire et moléculaire*. S.A. Maloine, Paris, et Presses de l'Université Laval, Québec, pp. 236-257.
- Devoret, R. (1992). «Les fonctions SOS ou comment les bactéries survivent aux lésions de leur ADN». *Annales de l'Institut Pasteur – Actualités*, Elsevier, Paris, (1) : 11-20.
- Environnement Canada, région du Québec (avril 1995). *Guide général de caractérisation SLV 2000*. Saint-Laurent Vision 2000.
- Environnement Canada, région du Québec (1993). *Test de génotoxicité avec la bactérie Escherichia coli PQ37 (SOS Chromotest^{MC}) : protocole pour échantillons aqueux*. Version 1.2.
- Environnement Canada (1992a). *Méthode d'essai biologique : essai de toxicité sur la bactérie Photobacterium phosphoreum*. Rapport SPE 1/RM/24.
- Environnement Canada (1992b). *Méthode d'essai biologique : essai d'inhibition de la croissance de l'algue d'eau douce Selenastrum capricornutum*. Rapport SPE 1/RM/25.

- Environnement Canada (1992c). *Méthode d'essai biologique : essai de reproduction et de survie sur le cladocère Ceriodaphnia dubia*. Rapport SPE 1/RM/21.
- Environnement Canada (1990a). *Méthode d'essai biologique : méthode de référence pour la détermination de la létalité aiguë d'effluents chez la Truite arc-en-ciel*. Rapport SPE 1/RM/13.
- Environnement Canada (1990b). *Méthode d'essai biologique : essai de létalité aiguë sur la Truite arc-en-ciel*. Rapport SPE 1/RM/9.
- Environnement Canada (1990c). *Document d'orientation sur le contrôle de la précision des essais de toxicité au moyen de produits toxiques de référence*. Rapport SPE 1/RM/12.
- EPA (1989). *Short-term Methods for Estimating the Chronic Toxicity of Effluents and Receiving Waters to Freshwater Organisms. Second Edition*. United States Environmental Protection Agency, EPA/600/4-89/001, 249 p.
- Gagné, F. et C. Blaise (1993). «Hepatic metallothionein level and mixed function oxidase activity in fingerling Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) after acute exposure to pulp and paper mill effluents». *Water Research*, 27 (11) : 1669-1682.
- Gouvernement du Canada (1992). *Suivi des effets sur l'environnement aquatique par les fabriques de pâtes et papiers et les installations extérieures de traitement visées par le Règlement sur les effluents des fabriques de pâtes et papiers de la Loi sur les pêches*. Annexe 1, 21 p.
- Gouvernement du Québec (1992a). *Guide d'évaluation de la qualité bactériologique de l'eau potable des réseaux de distribution : Méthodologie de laboratoire*. Ministère de l'Environnement, Direction des laboratoires, BAM-01, 101 p.
- Gouvernement du Québec (1992b). *Règlements sur les fabriques de pâtes et papiers*. Q-2, r.12 et Q-2, r.12.1. ISBN2-551-15446.
- Gulley, D.D., A.M. Boelter et H.L. Bergman (1991). *TOXSTAT Release 3.3*. Laramie Wy, University of Wyoming, 20 p.
- Kaiser, L.E. et V.S. Palabrica (1991). «*Photobacterium phosphoreum* toxicity data index». *Water Pollution Research Journal of Canada*, 26 (3) : 361-431.
- Mazidji, C.N., B. Koopman, G. Bitton et G. Voiland (1990). «Use of the Microtox and *Ceriodaphnia* bioassays in wastewaters fractionation». *Toxicity Assessment*, 5 : 265-277.

- Quillardet, P. et M. Hofnung (1985). «The SOS Chromotest, a bacterial assay for genotoxins: Procedures». *Mutation Research*, 147 : 65-78.
- Stephan, C.E. (1977). «Methods for calculating an LC50», dans F.L. Mayer et J.L. Hamelink (éd.), *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*. American Society for Testing and Materials, PA, pp. 65-84.
- St-Laurent, D., C. Blaise, P. MacQuarrie, R. Scroggins et B. Trottier (1992). «Comparative assessment of herbicides phytotoxicity to *Selenastrum capricornutum* using microplate and flask bioassay procedures». *Environmental Toxicology and Water Quality*, 7 : 35-48.
- Thellen, C., C. Blaise, Y. Roy et C. Hickey (1989). «Round robin with the *Selenastrum capricornutum* microplate assay». *Hydrobiologia*, 188/189 : 259-268.
- Walker, G.C. (1987). «The SOS response of *Escherichia coli*», dans F.C. Neidhart, J.L. Ingraham, B. Magasanik, K.B. Low, M. Schaechter et H.E. Umbarger (éd.), *Escherichia coli and Salmonella typhimurium, Cellular and Molecular Biology*. American Society for Microbiology, Washington DC, volume 2, pp. 1346-1357.
- White, P., J. Rasmussen et C. Blaise (1995a). «Comparing the presence, potency and potential hazard of genotoxins extracted from a broad range of industrial effluents». *Environ. Molec. Mutagen.*, 26: (sous presse).
- White, P., J. Rasmussen, et C. Blaise (1995b). «Sorption of organic genotoxins to particulate matter in industrial effluents». *Environ. Molec. Mutagen.*, 26: (sous presse).
- Woodland Hastings, J., C.J. Potrikus, S.C. Gupta, M. Kurfüst et J.C. Makemson (1985). «Biochemistry and physiology of bioluminescent bacteria». *Advances in Microbial Physiology*, 26 : 235-291.
- Zar, J.H. (1984). *Biostatistical Analysis. Second Edition*. Prentice-Hall Inc., Englewood Cliffs NJ, ISBN 0-13-077925-3, 718 p.