

TD
428
.P47
868
1992
C-1

**ÉVALUATION ÉCOTOXICOLOGIQUE
SOMMAIRE DES EFFLUENTS DE
3 RAFFINERIES DE PÉTROLE**

Par

Daniel Boudreau, Georges Costan et Norman Bermingham

Environnement Canada
Centre St-Laurent
Laboratoire Capitaine Bernier
Longueuil, Québec
Janvier 1992

SC350203
B68e
2ex.

2^e Ex.

RÉSUMÉ

Le potentiel toxique et génotoxique des effluents de 3 raffineries de pétrole, Ultramar (St-Romuald; 2 campagnes), Shell (Montréal-Est; 2 campagnes) et Pétro-Canada (Montréal-Est), a été évalué à l'aide d'un ensemble de bioessais utilisant des organismes-cibles représentatifs de plusieurs niveaux trophiques (décomposeurs, producteurs primaires, consommateurs primaires et secondaires). Trois niveaux de toxicité ont été analysés: 1) létalité chez les truites et les crustacés, 2) sublétaleté aiguë chez les bactéries (test Microtox), 3) sublétaleté chronique chez les algues (inhibition de croissance d'une population) et les crustacés (inhibition de la reproduction). Le SOS Chromotest a été utilisé pour détecter la génotoxicité des effluents (lésions du matériel génétique).

Aucun des effluents n'a démontré de toxicité létale envers les truites. Un seul effluent (Ultramar, février 1991) a démontré une légère toxicité létale envers les crustacés (CL50 = 1,1 UTI). La toxicité sublétaleté aiguë (<1 à 9,0 UTsa) et sublétaleté chronique (<1 à >20 UTsc) est faible. Les 3 raffineries procèdent à un traitement secondaire de leurs effluents; rencontrant ainsi les normes de létalité, pour la truite arc-en-ciel, du *Règlement et Directives sur les effluents des raffineries de pétrole* (Environnement Canada 1974). Toutefois, 3 échantillons ont révélé une génotoxicité potentielle.

La présence, dans un effluent, de substances organiques cancérigènes (HAP) devrait faire l'objet d'une attention particulière. Les concentrations de substances inorganiques rencontrent généralement les recommandations sur la vie aquatique d'eau douce (Environnement Canada 1987). Les substances organiques mesurées (volatiles chlorées, chlorophénols), même en très faibles concentrations, devraient nous préoccuper, vu leur forte capacité de bioaccumulation par les organismes aquatiques.

AVANT-PROPOS

Ce document concerne l'évaluation écotoxicologique sommaire des effluents de 3 raffineries de pétrole: Ultramar (St-Romuald) : campagnes d'octobre 1990 et de février 1991, Shell Canada (Montréal-Est) : campagne de décembre 1989 et de septembre 1990, et Pétro-Canada (Montréal-Est) : campagne de février 1990. Ces usines font partie du groupe des 50 industries prioritaires visées par le plan d'Action St-Laurent. Une courte introduction précède la méthodologie d'échantillonnage et d'analyse chimique, ainsi que la description des bioessais utilisés. La section suivante détaille les résultats pour chaque usine selon un schéma uniforme. Un bref aperçu du traitement et de la physico-chimie de chaque effluent considéré est donné d'après les rapports de caractérisation produits par les firmes Sodexen, Enviroservices et la firme Piette, Audy, Bertrand, Lemieux et associés. Les résultats de toxicité létale, sublétale aiguë et chronique suivent dans l'ordre. Lorsque pertinent une figure accompagne les résultats pour appuyer l'interprétation. Un tableau sommaire pour chaque niveau de toxicité sert de base à la discussion sur l'ensemble des usines. Les problèmes particuliers associés à un bioessai sont indiqués si nécessaire. Dans la mesure du possible, les liens probables entre les résultats de l'analyse physico-chimique et les effets observés sur les organismes sont discutés.

TABLE DES MATIÈRES

	<i>page</i>
RÉSUMÉ.....	II
AVANT-PROPOS.....	III
TABLE DES MATIÈRES.....	IV
LISTE DES FIGURES.....	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	VII
INTRODUCTION.....	1
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	3
1- Échantillonnage.....	3
2- Procédure analytique.....	3
3- Test biologiques.....	4
a) Bioessais létaux (poissons, crustacés).....	4
b) Bioessais sublétaux aigus (bactéries, poissons).....	5
c) Bioessais sublétaux chroniques (algues, crustacés, bactéries).....	5
4- Biodégradation et persistance de la toxicité.....	6
RÉSULTATS.....	7
Ultramar (St-Romuald; septembre 1990).....	7
Traitement et physico-chimie de l'effluent.....	7
Bioessais.....	8
1.0 Létalité.....	8
2.0 Sublétalité aiguë.....	8
3.0 Sublétalité chronique.....	8
Ultramar (St-Romuald; février 1991).....	10
Bioessais.....	10
1.0 Létalité.....	10
2.0 Sublétalité aiguë.....	10
3.0 Sublétalité chronique.....	10

	<i>page</i>
Shell Canada (Montréal-Est; décembre 1989).....	12
Traitement et physico-chimie de l'effluent.....	12
Bioessais	12
1.0 Létalité.....	12
2.0 Sublétalité aiguë.....	13
3.0 Sublétalité chronique.....	13
Shell Canada (Montréal-Est; septembre 1990).....	14
Bioessais	14
1.0 Létalité.....	14
2.0 Sublétalité aiguë.....	14
3.0 Sublétalité chronique.....	14
Pétro-Canada (Montréal-Est).....	16
Traitement et physico-chimie de l'effluent.....	16
Bioessais	17
1.0 Létalité.....	17
2.0 Sublétalité aiguë.....	17
3.0 Sublétalité chronique.....	17
DISCUSSION.....	19
Sensibilité des tests, niveaux de toxicité et paramètres mesurés.....	19
Létalité.....	19
Sublétalité aiguë.....	19
Sublétalité chronique.....	20
Éléments de toxicité létale et sublétales.....	26
Éléments de toxicité létale.....	26
Éléments de toxicité sublétales.....	27
RÉFÉRENCES.....	31

LISTE DES FIGURES

	<i>page</i>
Figure 1. Ultramar (septembre 1990). Inhibition de la reproduction de <i>Ceriodaphnia</i> exposée à diverses concentrations d'effluents.....	9
Figure 2. Ultramar (février 1991). Inhibition de la reproduction de <i>Ceriodaphnia</i> exposée à diverses concentrations d'effluents.....	11
Figure 3. Shell Canada (septembre 1990). Inhibition de la reproduction de <i>Ceriodaphnia</i> exposée à diverses concentrations d'effluents.....	15
Figure 4. Pétro-Canada . Inhibition de la reproduction de <i>Ceriodaphnia</i> exposée à diverses concentrations d'effluents.....	18

LISTE DES TABLEAUX

page

Tableau 1.	Sommaire des tests de létalité avec les truites arc-en-ciel et les crustacés pour les 3 raffineries.	23
Tableau 2.	Sommaire des tests de sublétaleté aiguë avec bactéries pour les 3 raffineries.	24
Tableau 3.	Sommaire des tests de sublétaleté chronique avec bactéries, algues et crustacés pour les 3 raffineries	25
Tableau 4.	Sommaire de l'ensemble des substances organiques détectées dans les effluents des trois raffineries.....	28

INTRODUCTION

La fonction première d'une raffinerie de pétrole est de convertir le pétrole brut en produits commerciaux finis tels : l'essence, le kérosène, le combustible diesel, les huiles de graissages et les cires. Cette transformation s'effectue selon deux types d'opérations principales: un procédé de séparation (distillation par fractionnement) et un procédé de transformation chimique ou de conversion (alkylation, hydrogénation). Les eaux usées d'une raffinerie proviennent de nombreuses sources (eaux de refroidissement, de procédés, eaux des cuves de stockage). Chacune de ces sources peut être en contact avec les hydrocarbures et ainsi, de nombreux composés organiques et inorganiques peuvent se retrouver dans les effluents d'une raffinerie.

Aux États-Unis, l'EPA a détecté jusqu'à 39 composés organiques et 12 métaux différents dans les effluents de 37 raffineries de pétrole (Stubblefield et Maki 1986). Outre le fait que la caractérisation chimique d'un tel nombre de composés soit complexe et coûteuse, celle-ci ne permet pas d'évaluer les effets de ces substances sur les organismes aquatiques. En effet, la seule connaissance des substances contenues dans un effluent ne nous renseigne pas, entre autres, sur les phénomènes de biodisponibilité ou de possibles biotransformations de ces composés à l'intérieur des organismes.

L'évaluation écotoxicologique met surtout l'emphasis sur les bioessais en utilisant l'analyse chimique (organique et inorganique) des effluents comme support à l'interprétation des résultats. Les objectifs majeurs de cette évaluation concernent donc: 1) le dépistage des effets toxiques, 2) la nature et la persistance des polluants, 3) les relations probables entre les substances identifiées et les effets observés. Ceux-ci intègrent l'ensemble des phénomènes antagonistes, additifs ou synergiques qui résultent de la présence simultanée de nombreuses substances (Cairns et Mount 1990).

La stratégie de dépistage des effets toxiques (Blaise *et al.* 1985, 1988) repose sur l'utilisation d'organismes représentatifs de plusieurs niveaux trophiques (décomposeurs, producteurs primaires, consommateurs primaires et secondaires). L'approche expérimentale en laboratoire est préconisée pour les besoins de simplicité, reproductibilité, coût-efficacité, sensibilité et disponibilité des bioessais (Cairns et Pratt 1989; Blaise 1991) Trois niveaux de toxicité sont analysés: 1) létal (stress entraînant la mortalité), 2) sublétal aigu (stress altérant les fonctions physiologiques sur une courte période de temps par rapport au cycle vital de

l'organisme), 3) sublétaI chronique (stress à plus long terme impliquant l'inhibition de la croissance d'une population, l'inhibition de la reproduction, les lésion du matériel génétique).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1- Échantillonnage

La procédure d'échantillonnage est établie par Environnement Canada (Vezeau 1982). Les échantillons sont maintenus à 4°C durant la période d'échantillonnage, de transport et d'entreposage. Les échantillons suivants ont été prélevés dans l'effluent final de chaque usine:

- 1 échantillon de 35 L, composé sur 24 heures dans un contenant de verre, servant aux analyses biologiques et physico-chimiques;
- 6 échantillons de 60 L composés sur 24 heures dans des réservoirs opaques de types "Rubbermaid" doublés intérieurement de sacs de polyéthylène, servant aux tests de toxicité avec poissons et crustacés.

Lorsque l'usine déverse ses eaux usées par effluents séparés, ceux-ci sont regroupés en un seul composé en fonction du débit de chaque effluent. Le nombre d'échantillons récoltés est le même que celui détaillé ci-dessus.

2- Procédure analytique

Les tests biologiques et les mesures physico-chimiques sont réalisés à partir de portions filtrées ou non-filtrées de l'échantillon selon les contraintes analytiques (Environnement Canada 1989a). Les paramètres physico-chimiques sont mesurés selon les méthodes normalisées (APHA *et al.* 1985) et les protocoles analytiques développés dans nos laboratoires. Les résultats des analyses chimiques pour les usines considérées dans ce document sont détaillés dans les rapports de caractérisation de chaque effluent (Enviroservices, Sodexen et Piette, Audy, Bertrand, Lemieux et associés).

3- Tests biologiques

Tous les résultats des tests biologiques sont exprimés en unités toxiques létales (UTI), sublétales aiguë (UTsa), sublétales chroniques (UTsc), ou génotoxiques (UG). Selon la nomenclature proposée par Sprague et Ramsay (1965), l'unité toxique est égale à 100/[%v/v] de la variable-réponse mesurée (e.g. CL50, CI50, seuil toxique).

a) Bioessais létaux (poissons, crustacés)

La létalité des composantes physiques, chimiques et bactériologiques de l'effluent est déterminée par des bioessais avec la truite arc-en-ciel *Oncorhynchus mykiss* = *Salmo Gairdneri* Richardson (Environnement Canada 1989b) et le crustacé *Ceriodaphnia dubia* = *C. reticulata* Jurine (U.S. EPA 1989). Le degré de toxicité létale de l'effluent pour les poissons est déterminé par la CL50-96 heures (concentration de l'effluent en % v/v produisant 50% de mortalité au terme d'une exposition de 4 jours). Chez les crustacés, la CL50 et le seuil toxique sont déterminés après une exposition de 7 jours. La moyenne géométrique (M.G.) de la NOEC (No Observable Effect Concentration) et de la LOEC (Lowest Observable Effect Concentration) détermine le **seuil toxique** :

$$\text{M.G.} = (\text{NOEC} \times \text{LOEC})^{1/2}$$

Les résultats sont exprimés sous forme d'unités toxiques létales (UTI). Les tests statistiques utilisés (analyse de régression pour la détermination de la CL50, ANOVA et contraste à posteriori ou l'équivalent non-paramétrique pour déterminer les valeurs de NOEC et de LOEC) sont détaillés dans les méthodes standardisées d'Environnement Canada (1989b) et de la U.S. EPA (1989) respectivement.

b) Bioessais sublétaux aigus (bactéries, poissons)

Le test Microtox (Beckman Instruments 1982) mesure l'inhibition de lumière émise par la bactérie *Photobacterium phosphoreum* Cohn exposée à diverses concentrations d'un effluent durant 15 minutes. La CI50 (concentration d'un effluent inhibant 50% de l'émission lumineuse) et la moyenne géométrique de la NOEC et de la LOEC sont déterminées. Lorsque les valeurs de LOEC et de NOEC ne sont pas disponibles, le seuil toxique est déterminé par la CI20 obtenue par régression linéaire. Il s'agit donc d'une approximation empirique du seuil toxique (en considérant une variation de 10% dans le témoin, on suppose qu'une inhibition de 20% dans le traitement devrait être significative). Les résultats sont exprimés en unités toxiques sublétales aiguës (UTsa).

c) Bioessais sublétaux chroniques (algues, crustacés, bactéries)

Le test algal avec *Selenastrum capricornutum* Printz (Blaise 1986) mesure l'inhibition de croissance d'une population exposée durant 96 heures à diverses concentrations d'effluent. Les résultats de la CI50 (analyse de régression) et du seuil toxique (moyenne géométrique de la LOEC et de la NOEC) sont exprimés en unités toxiques sublétales chroniques (UTsc).

Le test avec le cladocère *Ceriodaphnia dubia* (U.S. EPA 1989) mesure l'inhibition de la reproduction d'individus exposés à diverses concentrations d'effluents durant 7 jours. La moyenne géométrique de la NOEC et de la LOEC est déterminée et les résultats sont exprimés en unités toxiques sublétales chroniques (UTsc).

Les lésions du matériel génétique (ADN) sont mises en évidence à l'aide du SOS Chromotest (Quillardet *et al.* 1982). Une souche bactérienne de *Escherichia coli* Migula, modifiée génétiquement pour permettre un dosage colorimétrique, est utilisée pour évaluer le potentiel génotoxique d'un effluent. L'ajout d'un extrait enzymatique de foie de rat (+S9) permet de déceler la présence de substances pro-mutagènes activables par les voies métaboliques d'un mammifère (biotransformation), et par inférence inductive, de tout organisme. La NOEC et la LOEC sont déterminées et les résultats du seuil génotoxique sont exprimés en unités génotoxiques (Ug). Le test indique aussi la toxicité (non-quantifié) pour les bactéries.

4- Biodégradation et persistance de la toxicité

Ce test simule grossièrement un traitement biologique (aérobie) de l'effluent avant son rejet dans le milieu récepteur. Il permet d'évaluer la biodégradabilité des substances présentes dans l'effluent et les modifications de la toxicité résultant de l'activité microbiologique. Pour accélérer le processus de biodégradation, un mélange bactérien standardisé (Env. Canada 1989c) est ajouté à l'échantillon. Après 5 jours, le pH et le carbone organique total sont mesurés, et les résultats comparés aux valeurs initiales (temps t_0).

Le test Microtox, le test algal et le SOS Chromotest sont repris après l'étape de biodégradation de l'échantillon d'effluent et les résultats de toxicité comparés à ceux obtenus avant biodégradation. Un test "t" sur les pentes des droites de régression (Zar 1984) servant à calculer les CI50 algales permet de déterminer si les différences observées avant et après biodégradation sont significatives. Les tests avec truites et crustacés ne sont pas répétés après biodégradation, en raison de contraintes logistiques (notamment pour les truites) et des coûts particulièrement élevés pour la réalisation de ces tests.

RÉSULTATS

Ultramar (St-Romuald)

(première campagne; septembre 1990)

Traitement et physico-chimie de l'effluent

L'usine effectue un traitement primaire de ses eaux de procédés (séparateur CPI, unité de flottation) et secondaire (bassin d'aération), qui réduit de près de 100% les concentrations de sulfures et phénols, et de 79% les concentrations d'huiles et graisses. Pour les trois jours d'échantillonnage le débit moyen est de 9464 m³/jour. Le pH de la deuxième journée d'échantillonnage est neutre (7.0) et la dureté très élevée (520 mg/L CaCO₃). Les rejets de matières en suspension (25-40 mg/L), d'huiles et graisses (5,5-12 mg/L), d'azote ammoniacal (5,8-8,1 mg/L) et de phénols totaux (0,004-0,007 mg/L) sont les paramètres qui doivent être conformes au *Règlement et Directives sur les effluents des raffineries de pétrole* (Env.Canada 1974)

Parmi les paramètres inorganiques, les concentrations d'azote ammoniacal, NH₃, (5,8-8,7 mg/L) se situent dans la plage de toxicité létale pour les poissons (Alabaster and Loyd 1980, U.S. EPA 1985). Les concentrations de nitrite (0,2-0,3 mg/L) se retrouvent aussi dans la gamme de toxicité létale pour la truite arc-en-ciel. Celles de fer (1,5-2,7 mg/L) sont légèrement supérieures aux concentrations qui inhibent 50% de l'éclosion des oeufs chez la tête-de-boule (*Pimephales promelas*). Le cuivre (0,025 mg/L) se retrouve à des concentrations qui dépassent celles occasionnant 50% de mortalité chez le cladocère *Daphnia magna*, et les concentrations de plomb (0,06-0,1 mg/L) sont supérieures au seuil de toxicité chronique pour ce même crustacé (Env. Canada 1987).

Parmi les substances organiques détectées, signalons la présence d'un congénère de biphényles polychlorés, l'Arochlor 1260, avec une concentration de (0,1 µg/L) qui est près du seuil de toxicité chronique de la tête-de-boule (Env. Canada 1987).

Bioessais

1.0 Létalité

Aucune létalité n'a été détectée, tant chez la truite arc-en-ciel (*O. mykiss*) que chez le crustacé *Ceriodaphnia dubia*.

2.0 Sublétalité aiguë

La CI50 Microtox ainsi que le seuil toxique sont inférieures à 1 UTsa, avant et après biodégradation.

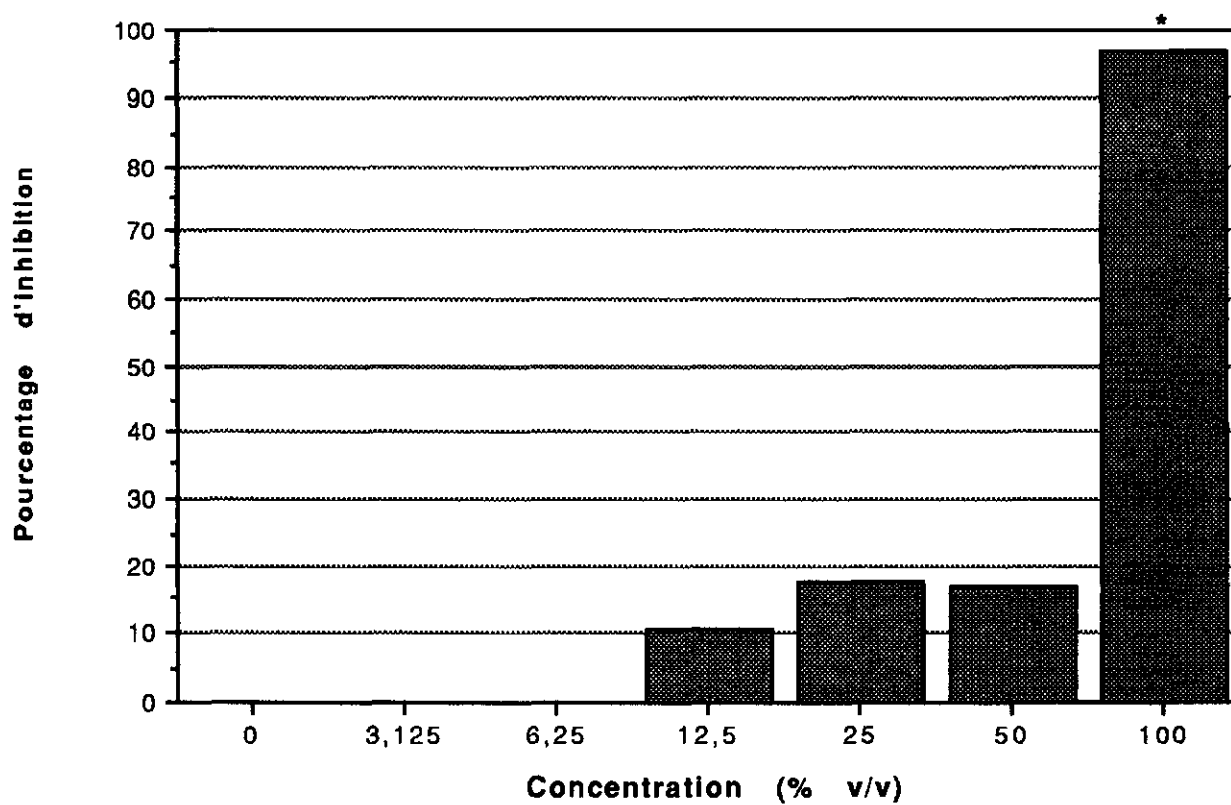
3.0 Sublétalité chronique

La CI50 algale est très faible (1,2 UTsc) et augmente légèrement après biodégradation (1,4 UTsc). Par contre, le seuil toxique (2,1 UTsc) ne varie pas après biodégradation.

Chez les crustacés, le seuil toxique pour la reproduction est lui aussi très faible (1,4 UTsc) et l'inhibition de la reproduction n'est significative qu'à la concentration de 100% v/v (Figure 1).

Aucune génotoxicité n'a été décelée dans l'échantillon d'effluent.

ULTRAMAR (St-Romuald)
(Première campagne, septembre 1990)



* = significativement différent du témoin ($p < 0.05$)

Figure 1. Inhibition de la reproduction de *Ceriodaphnia* exposée à diverses concentrations d'effluents.

ULTRAMAR (St-Romuald) (deuxième campagne, février 1991)

Bioessais

1.0 Létalité

Aucune létalité n'a été détectée chez la truite arc-en-ciel. Par contre, chez le crustacé *Ceriodaphnia dubia*, on note un seuil toxique de 1,4 UTI et une CL50 similaire (1,1 UTI).

2.0 Sublétalité aiguë

Le seuil toxique du test de Microtox se situe à 5,7 UTsa sur l'échantillon original, et après biodégradation (5 jours), on ne détecte plus aucune toxicité pour les bactéries. La CI50 est inférieure à 1 UTsa avant ou après l'étape de biodégradation.

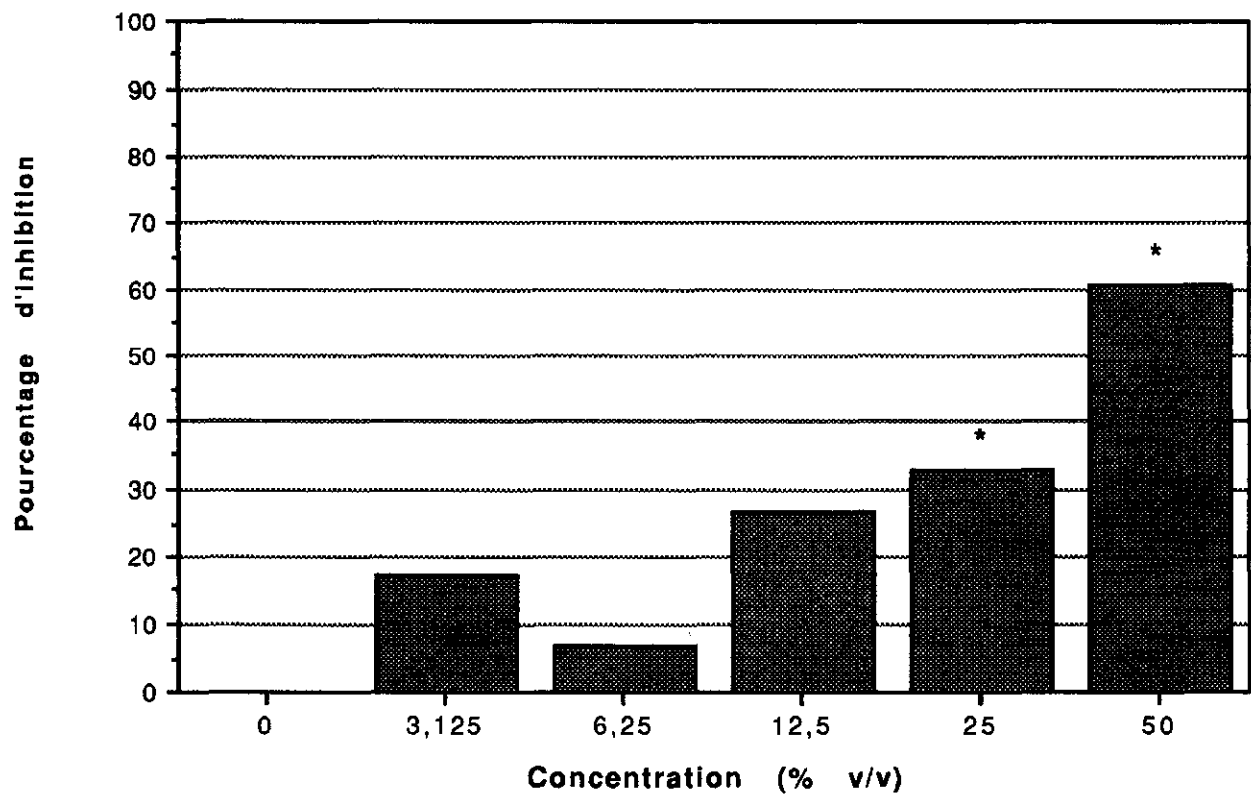
3.0 Sublétalité chronique

La CI50 algale est inférieure à 1 UTsc dans l'échantillon original. Le seuil toxique est très faible (1,4 UTsc) et augmente très légèrement après biodégradation à 2,8 UTsc.

L'inhibition significative de la reproduction chez le crustacé *Ceriodaphnia dubia* se produit à la concentration de (25% v/v), soit un seuil toxique de 5,7 UTsc (Fig. 2).

Une faible activité génotoxique a été détectée dans l'échantillon original (-S9), le seuil génotoxique se situant à 2,8 Ug, avant la correction pour la toxicité. Par contre, aucune activité génotoxique n'a été mise en évidence, tant après l'étape de biodégradation qu'après celle de l'activation enzymatique avec de l'extrait de foie de rat (+S9). Une toxicité (non quantifiée) pour les bactéries a été mesurée dans toutes les étapes du test.

ULTRAMAR (St-Romuald)
(Deuxième campagne, février 1991)



* = significativement différent du témoin ($p < 0.05$)

Figure 2. Inhibition de la reproduction de *Ceriodaphnia* exposée à diverses concentrations d'effluents.

SHELL CANADA (Montréal-Est)

(décembre 1989)

Traitement et physico-chimie de l'effluent

L'usine effectue un traitement primaire de ses eaux usées (séparateur par gravité de type API et réservoirs de flottation) et secondaire (bassin aéré et clarificateur secondaire). Le débit moyen est de 8967 m³/jour. Le pH de l'effluent varie de 6.6 à 8.0, et la dureté est moyenne (94-119 mg/L CaCO₃). Les rejets de solides en suspension (27,5-52 mg/L), d'huiles et graisses non volatiles (1,1-25,1 mg/L), de sulfures (0,407-0,442 mg/L) et de phénols totaux (0,006-0,04 mg/L) sont les paramètres qui doivent être conformes au *Règlement et Directives sur les effluents des raffineries de pétroles* (Env. Canada 1974).

Parmi les paramètres inorganiques, les concentrations de zinc (0,11-0,13 mg/L) se retrouvent dans la plage de toxicité létale pour la truite arc-en-ciel et pour l'invertébré *Daphnia hyalina* (Env. Canada 1987)

En ce qui concerne les paramètres organiques, on retrouve la présence de deux esters phtaliques: le diéthylhexylphtalate (1,5-3,6 µg/L) et le dibutyl phtalate (3,6-4,7 µg/L), à des concentrations légèrement supérieures à celles recommandées (Env.Canada 1987, MENVIQ 1990).

Bloessais

1.0 Létalité

Aucune létalité n'a été observée chez la truite arc-en-ciel. Le test de létalité avec le crustacé *Ceriodaphnia dubia* n'a pas été réalisé sur cet échantillon.

2.0 Sublétaleté aiguë

La CI50 pour le test Microtox se situe entre 1-2 UTsa. Le test n'a pas été repris après biodégradation.

3.0 Sublétaleté chronique.

Aucune inhibition de croissance algale avec *Selenastrum capricornutum* n'a été observé lors de ce test.

Le test de reproduction avec le crustacé *Ceriodaphnia dubia* n'a pas été réalisé.

Une activité génotoxique a été décelée dans l'échantillon original, sans activation métabolique (-S9), avec un seuil génotoxique supérieur à 20 Ug. Après activation métabolique (+S9) le seuil génotoxique s'établit à 10 Ug. Aucune mesure de toxicité envers les bactéries n'a été effectuée et le test n'a pas été repris après biodégradation.

SHELL CANADA (Montréal-Est)
(septembre 1990)

Bioessais

1.0 Létalité

On ne dénote aucune létalité tant chez les truites arc-en-ciel que chez les crustacés *Ceriodaphnia dubia*.

2.0 Sublétalité aiguë

L'échantillon n'a révélé aucune toxicité envers les bactéries du test Microtox, ni avant ni après l'étape de biodégradation.

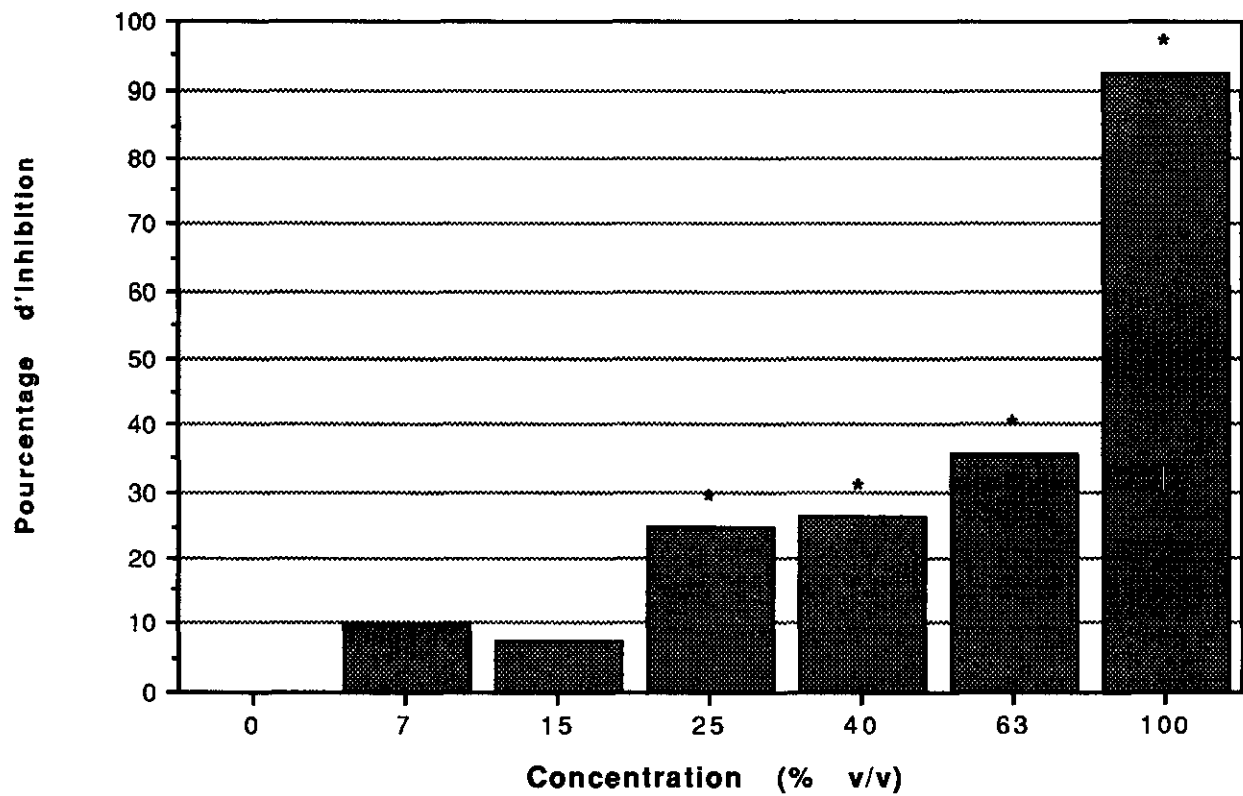
3.0 Sublétalité chronique.

Aucune inhibition de croissance algale n'a été observée et le seuil toxique n'a donc pas été déterminé.

Le seuil toxique pour la reproduction de *Ceriodaphnia* se situe à 5,2 UTsc. L'inhibition est significative à partir de la concentration de 25% v/v (Fig. 3).

Aucune génotoxicité ne fut décelée dans l'échantillon jusqu'aux concentrations de 10% v/v. Par contre, aux plus fortes concentrations testées (45% v/v), le test indique une toxicité (non quantifiée) pour les bactéries dans toutes les étapes du test, ce qui, suite à la correction de toxicité, montre une génotoxicité potentielle avec un seuil génotoxique de 4,7 Ug dans l'échantillon original. Ce seuil restant identique après biodégradation et suite à la bioactivation enzymatique.

SHELL CANADA (Montréal-Est)
(septembre 1990)



* = significativement différent du témoin ($p < 0.05$)

Figure 3. Inhibition de la reproduction de *Ceriodaphnia* exposée à diverses concentrations d'effluents.

PÉTRO-CANADA (Montréal-Est)

(février 1990)

Traitement et physico-chimie de l'effluent

L'usine effectue un traitement primaire de ses eaux usées (séparateur API, filtre à sable), et secondaire (biofiltre, clarificateur et étang de polissage). Le débit moyen pour les 3 jours d'échantillonnage est de 18 379 m³/jour. Le pH de l'effluent est très légèrement acide (6,1-6,6) et la dureté varie de 65-88 mg/L de CaCO₃. Les concentrations de carbone organique total (32-53 mg/L) et de DCO (124-183 mg/L) sont relativement basses. Les rejets de matières en suspension (26-38 mg/L), de sulfure (0,1 à 0,2 mg/L), de phénols (non détectés), d'azote ammoniacal (0,7 - 4,7 mg/L) et d'huiles et graisses (9,4 - 11 mg/L) sont les paramètres qui doivent être conformes au *Règlement et Directives sur les effluents des raffineries de pétrole* (Env. Canada 1974).

Parmi les paramètres inorganiques, signalons les concentrations de chrome (0,05 mg/L), supérieures à celles provoquant 50% de mortalité chez l'invertébré *Daphnia magna*, et celle de mercure (0,0005-0,0023 mg/L), se situant dans la plage de toxicité létale pour l'invertébré *Daphnia pulex* (Env. Canada 1987).

Quant aux paramètres organiques, signalons la présence de divers hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), dont trois considérés cancérogènes: le benzo (b) fluoranthène (0.6 µg/L), le benzo (a) anthracène (0.7-0.8 µg/L) et le benzo (a) pyrène (0.4-0.6 µg/L) (CNRC 1984)). D'autres composés aromatiques tel le benzidine (0.5-4.6 µg/L) et le dibenzofurane (0.2-1.4 µg/L) sont à considérer.

Bioessais

1.0 Létalité

Aucune létalité n'a été observée tant chez les truites arc-en-ciel que chez les crustacés.

2.0 Sublétalité aiguë

La CI50 Microtox se situe à 5,2 UTsa avant biodégradation, et elle diminue à 1-2 UTsa après biodégradation. Le seuil toxique est de 9,0 UTsa et diminue à 3,0 UTsa après biodégradation.

3.0 Sublétalité chronique

On n'observe aucune CI50 algale pour l'effluent. Le seuil toxique avant biodégradation est faible se situant à 1,2 UTsc, et reste similaire après biodégradation à 1,4 UTsc.

Le seuil toxique pour la reproduction de *Ceriodaphnia* est de 3,2 UTsc. L'inhibition de la croissance est significative à la concentration de 40% v/v d'effluent (Fig. 4).

L'échantillon original se révèle toxique pour les bactéries du "SOS Chromotest" à la concentration de 45% v/v. Après correction pour la toxicité, les valeurs obtenues indiquent un seuil génotoxique de 4,7 Ug. Aucune activité génotoxique n'a été décelée dans l'échantillon après biodégradation et après bioactivation enzymatique avec de l'extrait de foie de rat (+S9).

PÉTRO-CANADA (Montréal-Est)

(février 1990)

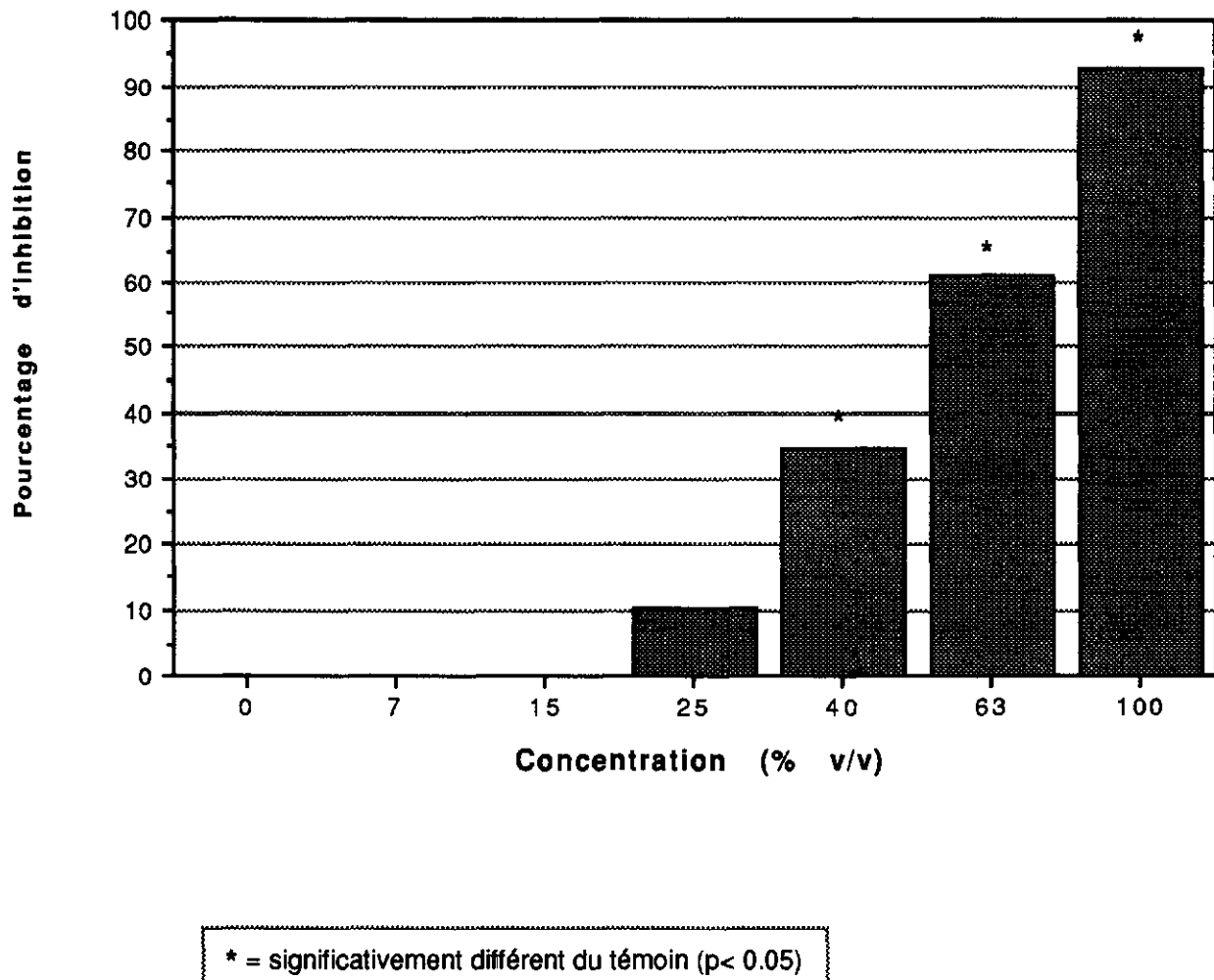


Figure 4. Inhibition de la reproduction de *Ceriodaphnia* exposée à diverses concentrations d'effluents.

DISCUSSION

Sensibilité des tests, niveaux de toxicité et paramètres mesurés.

Létalité

Aucune toxicité létale pour les truites arc-en-ciel n'a été détectée dans les effluents des 3 raffineries de pétrole (Tableau 1), conformément aux normes émises par Environnement Canada (1974). Plusieurs études ont d'ailleurs constaté que les raffineries, procédant à un traitement secondaire de leurs effluents, montraient une très faible létalité envers la truite arc-en-ciel (Côté 1973, Sprague *et al.* 1978)

En ce qui concerne la létalité chez les crustacés (*Ceriodaphnia dubia*), seul l'échantillon de la deuxième campagne de caractérisation d'Ultramar (février 1991) a montré une très faible toxicité létale (CL50 = 1,1 UTI). Cette toxicité létale est du même ordre de grandeur que la valeur de seuil toxique (1,4 UTI). Ainsi, même si les invertébrés sont reconnus pour être les organismes les plus sensibles dans l'évaluation des effluents de raffineries de pétrole (Sprague *et al.* 1978, Stubblefield *et al.* 1986), ils n'ont démontré ici qu'une faible réponse de létalité pour tous les échantillons testés. On peut donc considérer ces effluents comme peu problématiques quant à la variable létalité.

Sublétalité aiguë

Le test Microtox a indiqué une réponse positive pour trois échantillons. Deux CI50 ont été déterminées, soit celle de Pétro-Canada et de Shell Canada (décembre 1989) (Tableau 2). Pour Pétro-Canada la CI50 diminue, après biodégradation, de 5,2 UTsa à 1-2 UTsa. Elle subit une réduction comparable à celle de son seuil toxique, qui passe de 9,0 à 3,0 UTsa après biodégradation. Pour l'effluent de Shell Canada, le test après biodégradation n'a pas été réalisé. Pour l'échantillon d'Ultramar de février 1991, aucune CI50 n'a été déterminée et le seuil toxique est passé, de 5,7 UTsa à une valeur non détectable après biodégradation.

Le test Microtox étant généralement sensible aux substances organiques (Calleja *et al.* 1986), l'étape de biodégradation des échantillons semble bien montrer une diminution de la toxicité. Ce test n'ayant pas révélé une toxicité beaucoup plus forte que le test de létalité avec truites, on peut considérer la toxicité sublétale aiguë comme très faible pour l'ensemble des effluents.

Sublétalité chronique

En ce qui concerne les test algaux, un seul effluent (Ultramar sept.90) a donné une CI50, et celle-ci reste similaire après biodégradation (Tableau 3). De même, le seuil toxique de cet effluent ne change pas. L'étape de biodégradation affecte principalement les substances organiques (biodégradables), et les algues étant plutôt sensibles aux substances inorganiques (Rai *et al* 1981), on peut supposer que la biodégradation de l'échantillon ne diminuera pas sensiblement la réponse algale. Ainsi, l'échantillon de Pétro-Canada voit son seuil toxique demeurer le même après biodégradation, tandis que celui d'Ultramar (février 91) augmente légèrement. Dans tous les cas, on observe une très faible réponse de toxicité envers les algues.

La variable la plus sensible est celle de l'inhibition de la reproduction chez le crustacé *Ceriodaphnia dubia*. En effet, c'est le seul test où l'on a pu mettre en évidence une diminution significative de la reproduction pour tous les effluents, à l'exception du premier échantillonnage de Shell Canada pour lequel le test n'a pas été effectué (Tableau 3). Sprague *et al.* (1978) ont aussi conclu, dans une étude portant sur les effets sublétaux d'effluents de raffineries de pétrole que l'inhibition de la reproduction chez *Daphnia magna*, se révélait le paramètre mesuré le plus sensible.

Le test de reproduction a aussi démontré une meilleure sensibilité que le test Microtox, ce dernier ne répondant que pour trois échantillons (comparez les tableau 2 et 3). Cela est en accord avec les travaux de Calleja *et al.* (1986) qui ont constaté une plus grande sensibilité du test de *Daphnia magna* comparativement au test de Microtox, dans l'évaluation d'eaux de lixiviation d'une industrie de chimie organique. Cependant le test Microtox pour l'échantillon de Pétro-Canada, a révélé un seuil toxique légèrement plus élevé que celui des Cériodaphnies.

Le test de génotoxicité, le "SOS Chromotest", s'est révélé positif pour quatre échantillons sur cinq (Tableau 3). Par contre, les valeurs de génotoxicité obtenues proviennent généralement d'une correction mathématique effectuée suite à la toxicité des échantillons pour les bactéries. En effet, le SOS Chromotest a d'abord été élaboré pour évaluer la génotoxicité de substances pures (Quillardet *et al.* 1982). Son utilisation dans l'évaluation d'effluents complexes demeure problématique. En effet, aux plus basses concentrations la détection de lésions du matériel génétique est faible et peu fréquente. Aux plus fortes concentrations, la présence de substances toxiques pour les bactéries, peut masquer la génotoxicité d'un effluent. On effectue alors une correction mathématique qui tient compte de la diminution probable de l'activité bactérienne. Cette correction pourrait cependant occasionner une surestimation du potentiel génotoxique d'un échantillon.

Le premier échantillonnage de Shell Canada (décembre 1989) montre un seuil toxique supérieur à 20 Ug pour l'échantillon original et qui diminue à 10 Ug après traitement avec de l'extrait enzymatique de foie de rat (+S9). Aucun test de toxicité pour les bactéries n'a été effectué sur cet effluent. Le deuxième échantillon de Shell (septembre 1990) démontre une toxicité, aux plus fortes concentrations d'effluent (45% v/v), qui demeure présente dans toutes les situations testées - avant et après biodégradation ainsi qu'avec ou sans S9. La correction de toxicité montre alors une génotoxicité potentielle avec un seuil s'établissant à 4,7 Ug. Celui-ci demeure constant, même après l'étape de biodégradation et de bioactivation enzymatique, démontrant ainsi une possible persistance du caractère génotoxique de cet effluent (Tableau 3).

L'échantillon original de Pétro-Canada montre une toxicité à la concentration de 45% v/v, se traduisant par une mise en évidence de génotoxicité. Cependant, après biodégradation, ainsi qu'après bioactivation enzymatique (+S9), l'échantillon ne montre plus aucune toxicité ou génotoxicité.

La première campagne d'Ultramar (sept. 90) n'indique ni toxicité bactérienne, ni activité génotoxique. L'effluent de la deuxième campagne (février 91) a montré une toxicité qui persiste dans toutes les étapes du test. Cependant, seul l'échantillon original de cette campagne indique une génotoxicité potentielle, qui est présente même avant la correction pour toxicité (Tableau 3).

Tableau 1. Sommaire des tests de létalité avec les truites arc-en-ciel et les crustacés pour les 3 raffineries. Les valeurs sont en unités toxiques létales (UTI).

RAFFINERIES	BIOESSAIS		
	Truites <i>O. mykiss</i>	Crustacés <i>Ceriodaphnia dubia</i>	
	CL 50 (4 jours)	CL50 (7 jours)	Seuil toxique
Ultramar Septembre 1990	< 1	< 1	< 1
Ultramar Février 1991	< 1	1.1	1.4
Shell Canada Décembre 1989	< 1	n.d.	n.d.
Shell Canada Septembre 1990	< 1	< 1	< 1
Pétro-Canada Février 1990	< 1	< 1	< 1

n.d. = non déterminé

Tableau 2 . Sommaire des tests de sublétaleté aiguë avec bactéries pour les 3 raffineries. Les valeurs sont en unités toxiques sublétales aiguës (UTsa).

RAFFINERIES	BIOESSAI			
	Microtox			
	C150_{av}	C150_{ap}	ST_{av}	ST_{ap}
Ultramar Septembre 1990	<1	<1	<1	<1
Ultramar Février 1991	<2	<2	5.7	<2
Shell Canada Décembre 1989	1-2	n.d.	n.d.	n.d.
Shell Canada Septembre 1990	<1	<1	<1	<1
Pétro-Canada Février 1990	5.2	1-2	9.0*	3.0*

av : avant biodégradation

ap : après biodégradation

ST : seuil toxique

n.d.= non déterminé

* : valeur de la LOEC

CI50: concentration qui inhibe 50% de l'émission de lumière

Tableau 3. Sommaire des tests de sublétaleté chronique avec bactéries (génotoxicité), algues (croissance) et crustacés (reproduction) pour les 3 raffineries. Les valeurs sont en unités génotoxiques (Ug) pour la génotoxicité et en unités toxiques sublétales chroniques (UTsc) pour l'inhibition de la croissance et de la reproduction.

RAFFINERIES	BIOESSAIS								
	Bactéries				Algues		Crustacés		
	(génotoxicité)								
	ST (-S9)		ST (+S9)		CI50	CI50	ST	ST	ST
	Av	Ap	Av	Ap	Av	Ap	Av	Ap	
Ultramar Septembre 1990	<2.5	<2.5	<2.5	<2.5	1.2	1.4	2.1	2.1	1.4
Ultramar Février 1991	2.8 ^a	<2	<2	<2	<1	n.d	1.4	2.8	5.7
Shell Canada Décembre 1989	>20 ^c	n.d.	10 ^c	n.d.	<1	n.d.	<1	n.d.	n.d.
Shell Canada Septembre 1990	4.7 ^b	4.7 ^b	4.7 ^b	4.7 ^b	<1	<1	<1	<1	5.2
Pétro-Canada Février 1990	4.7 ^b	<2	<2	<2	<1	<1	1.2	1.2	3.2

(-S9) = Sans ajout d'extrait enzymatique de foie de rat

Av = Avant biodégradation

ST= Seuil toxique

^a = Avant correction pour la toxicité

^c = Sans analyse de la toxicité

(+S9) = Avec ajout d'extrait enzymatique de foie de rat

Ap = Après biodégradation

n.d. = non déterminé

^b = Après correction pour la toxicité

Éléments de toxicité létale et sublétales

Éléments de toxicité létale

On ne détecte donc presque aucune toxicité létale lors des bioessais effectués sur les effluents des trois raffineries. La seule exception concerne la deuxième campagne d'Ultramar (février 91) où l'on a mesuré, pour les crustacés, un seuil toxique de 1,4 UTI. La caractérisation chimique complète de cet effluent n'étant pas disponible lors de cette évaluation, il n'est pas possible de discuter des substances susceptibles d'expliquer cette létalité.

Dans le cas des autres effluents, les concentrations des substances inorganiques dépassent très rarement les concentrations jugées létales pour les espèces étudiées (Alabaster et Loyd 1980, Env.Canada 1987, MENVIQ 1990). Il est alors très difficile d'évaluer ou de préciser les éléments responsables des effets sur les organismes étudiés. En effet, on reconnaît généralement que les effluents complexes ne se prêtent pas facilement à l'évaluation de leur toxicité, par la seule caractérisation chimique des substances présentes. Ainsi, Buikema *et al.* (1976) ont observé que des effluents simulés de raffineries de pétrole, sans ajout d'ammoniaque ou sans phénols, montraient une plus grande toxicité que des effluents complets. Les auteurs ont suggéré la possibilité d'effets antagonistes entre les divers composés.

En ce qui concerne les substances organiques, les concentrations détectées dans les échantillons se situent généralement sous le seuil de létalité pour les organismes aquatiques, autant pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), les chlorophénols que les autres composés (Env.Canada 1987). D'ailleurs, il est reconnu que les composés organiques, dans le milieu aquatique, se retrouvent généralement sous les concentrations jugées létales pour les organismes vivants (CNRC 1982, 1984, Neff 1985).

De plus, les trois raffineries procèdent à un traitement secondaire de leur effluent, et plusieurs études soulignent le fait que ces procédés réduisent généralement la toxicité létale à des niveaux qui rencontrent les normes canadiennes (Sprague *et al.* 1978, Stubblefield et Maki 1986).

Éléments de toxicité sublétales

Les raffineries de pétrole convertissent les huiles lourdes en produits de synthèse commerciale, il n'est donc pas surprenant de retrouver dans leurs effluents

un certain nombre d'hydrocarbures. Le Tableau 4 résume, pour les trois raffineries, l'ensemble des substances organiques détectées et classées par famille de produits.

On remarquera, dans ce tableau, le large éventail de composés organiques détectés dans l'effluent de Pétro-Canada. On a déjà noté que des substances organiques, même en très faible concentration, peuvent avoir un effet additif et ainsi contribuer à la toxicité d'un effluent (Deneer *et al.* 1988). Ainsi, l'échantillon de Pétro-Canada se distingue par l'étendue de ses réponses avec des seuils toxiques s'échelonnant de 1,2 à 9,0 UT et des réponses significatives pour tous les bioessais de sublétaleté. Il est donc probable qu'une partie de la toxicité sublétaleté puisse provenir de cet ensemble de substances organiques.

Par ailleurs, la caractérisation chimique de l'effluent de Shell Canada effectué en décembre 1989, a révélé de faibles concentrations de substances organiques, et les réponses des bioessais, pour les deux campagnes d'échantillonnage, se sont aussi révélées très faibles.

Cependant, la deuxième campagne d'Ultramar, a montré des réponses plus significatives, lors des bioessais, que la première. Mais cette campagne n'a pas révélé de concentrations de composés organiques beaucoup plus élevées que lors du premier échantillonnage (voir Tableau 4). La caractérisation finale n'étant pas disponible lors de cette évaluation, aucun élément de réponse ne peut-être suggéré. Comme déjà mentionné, dans l'ensemble des bioessais effectués, l'inhibition de la reproduction chez *Ceriodaphnia dubia* s'est révélée la variable la plus sensible. On sait que cette espèce est généralement affectée par la présence de composés organiques, tel entre autres les HAP (Holst et Giesy 1989) et les chlorophénols (CNRC 1979).

Le test de génotoxicité, le "SOS Chromotest", s'est avéré positif pour 80 % des échantillons analysés. Même si les résultats de ce test doivent être considérés avec prudence, suite à une toxicité chez les bactéries, la présence de substances organiques susceptibles d'être génotoxiques doit être envisagée.

Ainsi, on a détecté, dans l'effluent de Pétro-Canada, plusieurs hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) jugés cancérigènes, tels le benzo (a) pyrène, le benzo (b) fluoranthène et le benzo (a) anthracène (CNRC 1984). La diminution du rejet de ces composés dans le milieu aquatique devrait faire l'objet d'une attention particulière.

La bioaccumulation des substances organiques est un autre facteur à prendre en considération. En effet, même si présentement il n'existe pas encore de bioessais normalisés pour évaluer la bioaccumulation (McLeay *et al.* 1990), on doit quand même envisager le risque d'une plus grande toxicité reliée à ce processus.

Par exemple, on a observé dans une étude avec *Daphnia pulex* que cet organisme pouvait accumuler certains HAP, comme le benzo [a] anthracène, à des concentrations 10 000 fois supérieures à celles rencontrées dans l'eau (Southworth et al. 1978).

La biodisponibilité des substances organiques des effluents de raffineries devrait aussi faire l'objet d'études plus poussées. Knap et Williams (1982) ont montré que les hydrocarbures se retrouvaient rapidement adsorbés à la matière organique et aux sédiments, et n'était plus alors détectables dans la colonne d'eau. On peut donc se demander, si les bioessais utilisant des échantillons filtrés, (SOS Chromotest et le test algal avec *Selenastrum capricornutum*), permettent de bien évaluer les effets potentiels de l'ensemble des hydrocarbures rejetés.

Finalement, de nombreux facteurs peuvent faire varier les conditions d'absorption, de bioaccumulation et de transformation des substances organiques rejetées par les raffineries de pétrole (voir Stubblefield et Maki 1986). Des études plus poussées sur la toxicité des particules en suspension, sur la bioaccumulation et sur le devenir physico-chimique des hydrocarbures devraient être envisagées pour permettre une caractérisation plus complète des effluents de raffineries de pétrole.

Tableau 4. Sommaire de l'ensemble des substances organiques détectées dans les effluents des trois raffineries.

	Ultramar Septembre 1990			Ultramar Février 91			Shell Canada Décembre 89			Pétro-Canada Février 90		
Date d'échantillonnage	25/09 91	26/09 90	27/09 90	29/01 91	30/01 91	31/01 91	12/12 89	13/12 89	14/12 89	20/02 90	21/02 90	22/02 90
Concentration	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)	(µg/l)
Volatiles non chlorés	20,0			16,2						146,8	46,5	167,4
Volatiles chlorés	4,0			39,5	10	12	17,0			476,8	455,2	49,2
Phénols non chlorés										13,2	5,5	11,7
Chlorophénols										3,3	2,8	3,5
Analines et Isophorones										2,4	2,3	2,3
HAP										11,2	4,0	21,1
Esters phtaliques							6,9	8,3	5,1			
BPC	0,1											
Dibenzo-furanne										0,2	1,4	
Composés aromatiques divers										6,0	4,4	10,9
Série d'alcane divers				45	50	120						
Phénols totaux	7,0	5,0	4,0				6,0	6,0	40			

RÉFÉRENCES

- Alabaster, J.S. et R. Loyd. 1980. Water quality criteria for freshwater fish. Butterworth, London, England.
- APHA (American Public association), AWWA (American Water Works Association) et WPCF (Water Pollution Control Federation). 1985. Standard methods for the examination of water and wastewater, 16th ed. APHA (ed.), Washington, D.C., USA.
- Beckman Instruments Inc. 1982. Microtox System Operating Manual 01555879. Carlsbad, CA,USA.
- Blaise, C., N. Bermingham et R. Van Coillie. 1985. The integrated ecotoxicological approach to assessment of ecotoxicology. Water Qual. Bull. 10: 3-10, 60-61.
- Blaise, C. 1986. Micromethod for acute aquatic toxicity assessment using the green alga *Selenastrum capricornutum*. Toxicity Assessment 1: 377-385.
- Blaise, C. 1991. Microbioassays in aquatic ecotoxicology: characteristic, utility and prospect. Environmental Toxicology and Water Quality 6: 145-155.
- Blaise, C., G. Sergy, P. Wells, N. Bermingham. 1988. Biological testing - Development, application and trends in Canadian environmental protection laboratories. Toxicity Assesment 3: 385-406.
- Buikema, A.L. Jr., D.R. Lee, et J.Cairns, Jr. 1976. A screening bioassay using *Daphnia pulex* for refinery wastes discharged into freshwater . J.Test. Eval. 4;119-125.
- Calleja, A., J.M. Baldasano et A. Mulet. 1986. Toxicity analysis of leachates from hazardous wastes via Microtox and *Daphnia magna*. Toxicity assessment 1: 73-83.
- Cairns, Jr., J. et J.R. Pratt. 1989. The scientific basis of bioassays. Hydrobiologia 188/189: 5-20.
- Cairns, Jr., J. et D.I. Mount. 1990. Aquatic toxicology. Part 2 of four-part series. Environ. Sci. Technol. 24: 154-161.

- CNRC 1979. Chloration en milieu aqueux de composés organiques: réactivité chimique et effets sur l'état de l'environnement. Comité associé sur les critères scientifiques concernant l'état de l'environnement, Conseil national de recherches du Canada, Ottawa. CNRC n° 16451. 150 pp
- CNRC 1982. Chlorophénols: critères pour évaluer leurs effets sur l'état de l'environnement. Comité associé sur les critères scientifiques concernant l'état de l'environnement, Conseil national de recherches du Canada, Ottawa. CNRC n° 18579. 217 pp.
- CNRC. 1984. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le milieu aquatique: formation, sources, devenir et effets sur le biote aquatique. Comité associé sur les critères scientifiques concernant l'état de l'environnement, Conseil national de recherches du Canada, Ottawa. CNRC n° 18982. 218 pp.
- Coté, R.P. 1973. A toxicological study of a partially treated oil refinery effluent at Eastern Passage, Halifax County. Report EPS-5-WP-73-1. Environmental Protection Service, Ottawa, Canada.
- Deneer, J.W., T.L. Sinnige, W. Seinen et J.L.M. Hermens. 1988. The joint acute toxicity to *Daphnia magna* of industrial chemicals at low concentrations. Aquatic Toxicology 12: 33-38.
- Environnement Canada 1974. Règlements et directives sur les effluents des raffineries de pétrole. Direction générale de la lutte contre la pollution des eaux. Rapport EPS 1-WP-74-1
- Environnement Canada. 1987. Vie aquatique d'eau douce. Pages 3-1 à 3-59 dans: Recommandations pour la qualité des eaux au Canada. Conseil canadien des ministre des ressources et de l'environnement, Ottawa.
- Environnement Canada. 1989a. Approche intégrée pour l'évaluation écotoxicologique des rejets industriels. Conservation et Protection., Centre St-Laurent, Région du Québec. 17 pp.
- Environnement Canada 1989b. Acute letality using rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Conservation and Protection, Ottawa. 54 pp.
- Environnement Canada 1989c. Essai de biodégradation. Conservation et Protection, Centre St-Laurent, Région du Québec. 3 pp.

- Enviroservices. 1990. Caractérisation des eaux usées Pétro-Canada. Groupe Intervention St-Laurent. Montréal.
- Holst, L.L., J.P. Giesy. 1989. Chronic effect of the photoenhanced toxicity of anthracene on *Daphnia Magna* reproduction. Env.Toxicology and Chemistry, vol. 8, pp. 932-942.
- Knap, A.H. et P.J. Williams. 1982. Experimental studies to determine the fate of petroleum hydrocarbons from refinery effluent on an estuarine system. Env. Sci. Technology. 16; 1-4.
- Leppakoski et Lindstrom 1978. Recovery of benthic macrofauna from chronic pollution in the sea area off a refinery plant, Southwest Finland. J.Fish. Res. Board Ca. 35; 766-775
- McLeay, D.J., J.B. Sprague, G.A. Sergy, R.P. Scrogginns. 1990. Status of development, Environment Canada, biological test method. Environment Canada.
- Ministère de l'Environnement du Québec.1990. Critères de qualité de l'eau. Service d'évaluation des rejets toxiques et Direction de la qualité des cours d'eau, Ministère de l'Environnement du Québec, Québec, 423 p.
- Neff, J.M. 1985. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Fundamentals of aquatic toxicology, édité par Gary M. Rand, Sam R. Petrocelli. pp. 416-454 Hemisphere publishing corporation New-York.
- Piette, Audy, Bertrand, Lemieux & Associés (Lavalin). 1991. Caractérisation des eaux usées Ultramar Canada inc Campagne d'automne. Groupe Intervention St-Laurent. Montréal.
- Quillardet, P.O. Huisman, R. D'Ari et M. Hofnung. 1982. SOS Chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in *Escherichia coli* K-12 to measure genotoxicity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 5971-5975.
- Rahimtula, A.D., O'Brien, P.J. and Payne , J.F. 1982. Induction of xenobiotic metabolism in rats on exposure to hydrocarbons based oils. In The toxicology of petroleum hydrocarbons. Edited by H.N. Macfarland, C.E. Holdworth, J.A. MacGregor, R.W. Call and M.L. Kane. American Petroleum Institute, Washington, D.C. pp115-121.

- Rai, L.C., J.P. Gaur et H.D. Kumar. 1981. Phycology and heavy metal pollution. Biol. rev. 56: 99-151.
- Sodexen. 1990. Programme de caractérisation des effluents de la compagnie Shell Canada Ltée (Hiver 1990). Groupe Intervention St-Laurent. Montréal.
- Southworth, G.R., J.J. Beauchamp, P.K. Schmieder 1978. Bioaccumulation potential of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Daphnia pulex*. Water Res. 12: 973-977.
- Sprague, J.B. et B.A. Ramsay. 1965. Lethal levels of mixed copper-zinc solutions for juveniles salmon. J. Fish. Res. Board Can. 22: 425-432.
- Sprague, J.B., D.W. Rowe, G.F. Westlake, T.A. Heming et I.T. Brown. 1978. Sublethal effects of treated liquid effluent from a petroleum refinery on freshwater organisms. Petroleum Association for Conservation of the Canadian Environment and Environment Canada, Ottawa, Canada.
- Stubblefield, W.A. et A.W. Maki. 1986. Environmental Safety Assesment of Oil Refinery Effluents. in: Environmental hazard assesment of effluents edited by Bergman H.L., R.A. Kimerle et A.W. Maki. Pergamon Press New-York. pp 282-296.
- U.S. EPA (Environmental Protection Agency) 1985. Ambient Water Quality Criteria for Amonia-1984 Criteria and Standard Division U.S. Environmental Protection Agency, Washington, D.C. EPA-440/5-85-001.
- U.S. EPA (Environmental Protection Agency) 1989. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. USEPA/600/4-89/001.
- Vezeau, R. 1982. Protocoles d'échantillonnage, de préservation et de préparation des échantillons pour les analyses des polluants prioritaires. Conservation et Protection, Région du Québec, 35 pp.
- Zar, J.H. 1984. Biostatistical analysis, 2nd ed. Prentice Hall, Englewoods Cliffs, NJ.

