

LOCWELD
(CANDIAC)

EVALUATION ECOTOXICOLOGIQUE SUR L'EFFLUENT
DU POSTE DE NEUTRALISATION DE L'USINE
LOCWELD (CANDIAC)

ENVIRONNEMENT CANADA
CENTRE SAINT-LAURENT
LABORATOIRES CAPITAINE BERNIER
LONGUEUIL, QUEBEC
JANVIER 1990

RESUME

Une évaluation écotoxicologique sommaire a été réalisée sur un échantillon composé de l'effluent du poste de neutralisation de l'usine Locweld (Candiac). L'approche expérimentale comprenait 1) une série de bio-tests mesurant les effets létaux, sublétaux et chroniques sur des bactéries, algues, crustacés et poissons, 2) l'analyse chimique de quelques paramètres caractérisant les procédés industriels de cette usine. Aucune toxicité létale n'a été observée. Des effets sublétaux ont été mesurés sur les poissons tête-de-boule (inhibition de la croissance en poids à la concentration 10%v/v de l'échantillon). Les teneurs en ppm de plusieurs métaux (Zn, Cr, Pb, Cu, Cd) dans l'effluent étaient suffisamment élevées pour expliquer la toxicité sublétales. Une toxicité chronique a été observée chez les cladocères Ceriodaphnia (inhibition de la reproduction à la concentration 20%v/v de l'échantillon). Une dose-réponse génotoxique a été obtenue avec activation métabolique (+S9), suggérant la présence de substances pro-mutagènes dans l'échantillon. Des lésions du matériel génétiques sont susceptibles de se produire à une concentration proche de 2% v/v de l'effluent.

INTRODUCTION

Pour évaluer le danger potentiel que représentent les résidus liquides industriels pour l'environnement, une approche expérimentale en laboratoire est préconisée. Celle-ci a comme objectifs majeurs 1) de dépister les effets toxiques, 2) renseigner sur la nature et la persistance des polluants, 3) établir les relations possibles entre les substances identifiées et les effets observés, 4) identifier les problèmes environnementaux autres que toxiques (eutrophisation, perturbations physico-chimiques, contamination bactérienne). Selon les connaissances préalables de l'échantillon visé (origine industrielle, type de procédé, bilan écotoxicologique antérieur), l'approche peut être réduite ou modifiée.

La stratégie de dépistage des effets toxiques repose sur l'utilisation d'organismes représentatifs de plusieurs niveaux trophiques (bactéries, algues, crustacés, poissons). Trois niveaux de toxicité sont analysés: 1) létal (mortalité), 2) sublétal (inhibition de croissance d'une population, stress physiologique altérant les fonctions vitales telles l'équilibre énergétique et la croissance), 3) chronique (inhibition de la reproduction, lésions du matériel génétique, bioaccumulation). L'analyse chimique organique et inorganique offre le support nécessaire à l'interprétation des résultats.

MATERIEL ET METHODES

1- Echantillonnage

La procédure d'échantillonnage est celle d'Environnement Canada (Vezeau 1982). Tous les échantillons sont maintenus à 4°C durant la période d'échantillonnage, de transport et d'entreposage. Les échantillons suivants ont été prélevés à l'effluent du traitement (poste de neutralisation et sédimentation):

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

2- Procédure analytique

Les tests et mesures sont réalisés à partir de portions filtrées ou non-filtrées de l'échantillon, d'après les objectifs et les contraintes analytiques (Env. Canada 1989a).

a) Physico-chimie

Les paramètres physico-chimiques sont mesurés selon les méthodes normalisées (APHA et al. 1985) et les protocoles analytiques développés dans nos laboratoires (Env. Canada 1989a).

b) Tests biologiques

1- Bioessais létaux (poissons, crustacés)

La létalité des composantes physiques, chimiques et bactériologiques de l'effluent est déterminée par des bio-tests avec truites arc-en-ciel (Salmo gairdneri), tête-de-boule (Pimephales promelas) et le crustacé Ceriodaphnia reticulata. La durée des tests est respectivement de 4, 7 et 7 jours. Les méthodes normalisées (Env. Canada 1989b, EPA 1985a, b) sont utilisées. Le degré de toxicité létale de l'effluent est déterminé par une CL50. Les résultats sont exprimés sous forme d'unités toxiques létales ($UT1 = 100/CL50$).

2- Bioessais sublétaux (bactéries, algues, poissons)

Les tests ci-dessous mesurent quelques aspects des fonctions vitales d'un organisme ou d'une population pouvant être altérées, diminuant ainsi les probabilités de survie à plus ou moins long terme.

- Le test Microtox (Beckman Instruments 1982) mesure l'inhibition de lumière émise par la bactérie Photobacterium phosphoreum exposée à l'échantillon durant 5 minutes. La CI50 (concentration inhibitrice) est déterminée et les résultats exprimés sous forme d'unités toxiques sublétales (UTs1).

- Le test algal avec Selenastrum capricornutum (Blaise 1986) mesure l'inhibition de croissance d'une population exposée durant 96 heures. La CI50 est déterminée et les résultats exprimés en UTs1.

- Le test de croissance sur la tête-de-boule (EPA 1985a) mesure l'inhibition de croissance en poids de larves exposées durant 7 jours. La concentration maximale de l'effluent (%v/v) ne produisant pas d'effet et la concentration minimale produisant un effet sont

déterminées. La moyenne géométrique de ces valeurs est calculée et exprimée en UTsl.

3- Bioessais chroniques (bactéries)

- Reproduction

Le test sur le cladocère Ceriodaphnia reticulata (EPA 1985b) mesure l'inhibition de la reproduction d'individus exposés durant 7 jours. Le traitement des données est identique au précédent. Les résultats sont exprimés en unités toxiques chroniques (UTC).

- Génotoxicité

Les lésions du matériel génétique sont le résultat de cette forme non-apparente de toxicité. Les altérations du génôme sont mises en évidence à l'aide d'un bio-test, le SOS chromotest (Quillardet et al. 1982). Une souche bactérienne de Escherichia coli, modifiée génétiquement pour permettre un dosage colorimétrique, est utilisée pour évaluer le potentiel génotoxique d'un effluent. Le test est réalisé sur l'échantillon original. L'ajout d'un extrait enzymatique de foie de rat (+S9) permet de déceler la présence de substances pro-mutagènes activables par les produits de l'activité métabolique de mammifère (et par inférence, de tout organisme). Les résultats sont exprimés par une dose-réponse des concentrations de l'effluent vs les facteurs d'induction (voir Quillardet et al. 1982) et un seuil minimal génotoxique (SMG).

RESULTATS ET DISCUSSION

Analyses chimiques: caractérisation et propriétés toxiques des principaux éléments de l'effluent

L'annexe 1 indique les concentrations mesurées pour les paramètres chimiques. Les métaux, l'azote ammoniacal et la matière en suspension ont été retenus comme éléments d'interprétation des effets observés dans les bio-tests. La concentration de zinc (7.4ppm) est de 1 à 2 ordres de magnitude plus élevée que celle des autres métaux. La toxicité de ce métal augmente avec le pH mais diminue avec l'augmentation de la dureté de l'eau. La dureté n'a pas été calculée. On estime, cependant, d'après les concentrations des divers métaux et de matière en suspension, qu'elle devait être assez élevée (>100 mg/L CaCO_3). La concentration d'ammoniaque total était assez élevée pour produire des effets létaux ou sublétaux (9.5 mg/L). Le pourcentage de NH_3 non-ionisé (forme toxique) augmente avec l'augmentation de pH et produit chez le poisson des lésions de l'épithélium branchial et des pathologies sanguines et hépatiques (EPA 1972, Env. Canada 1987). D'après les mesures de pH et de température on estime à 1 ppm la forme non-ionisée de NH_3 . Les concentrations élevées de matière en suspension sont susceptibles de produire le colmatage des branchies et d'interférer avec les fonctions respiratoires (Env. Canada 1987). Ce mode d'action mécanique a vraisemblablement plus d'impact chez les cladocères, puisque les principaux sites d'échanges gazeux possèdent de nombreux cils et soies ou peuvent s'agglomérer les particules en suspension.

Tests biologiques

1- Toxicité létale

Aucune toxicité létale n'a été observée chez la truite arc-en-ciel, la tête-de-boule et le cladocère Ceriodaphnia (Tableau 1). Dans l'ensemble, l'analyse chimique supporte ces résultats (sauf pour le NH_3 total). Une CL_{50} de 8 mg/L (NH_3 total, pH= 8.5) a déjà été rapportée (Fromm 1970).

2- Toxicité sublétale

La croissance en poids de la tête-de-boule était inhibée de façon significative (Fig. 1, Annexe 2) à une concentration 10%v/v de l'échantillon. Les concentrations de métaux étaient suffisamment élevées pour expliquer les effets sublétaux observés. La toxicité des métaux peut cependant varier en fonction de plusieurs paramètres (pH, température, dureté, oxygène dissous, combinaison de plusieurs éléments produisant des effets de synergie, additivité, ou antagonisme). Il est donc difficile de déterminer le comportement toxique de ces éléments. De plus, aucun effet n'a été noté sur les populations algale et bactérienne ($< 1 \text{ UTsl}$), traduisant ainsi les divergences de tolérance à la toxicité parmi les organismes de niveaux trophiques différents. Néanmoins, les teneurs en métaux considérés ici sont plus élevées que celles recommandées pour préserver la vie aquatique (EPA 1972, Env. Canada 1987).

3- Toxicité chronique

- Reproduction

Une concentration 20%v/v de l'échantillon inhibe significativement la reproduction de Ceriodaphnia (Fig. 2, Annexe 2). Biesinger et

Christiensen (1972) ont rapporté une inhibition de la reproduction chez Daphnia magna à une concentration de zinc de 0.1 mg/L, 0.0005 mg/L de cadmium et 0.03 mg/L de plomb (tests séparés, dureté= 45 mg/L CaCO₃).

- Génotoxicité

Une dose-réponse génotoxique (Fig. 3) a été obtenue avec activation métabolique (+S9), ce qui suggère la présence de substances pro-mutagènes activables par les systèmes enzymatiques animaux (Env. Canada 1989a). Le seuil minimal génotoxique (48.5 UGT) indique que des lésions du matériel génétique sont susceptibles de se produire à une concentration de l'échantillon proche de 2%v/v. Ces substances potentiellement mutagènes étaient vraisemblablement contenues dans la fraction solide dissoute (1188 mg/L) directement assimilable par les organismes.

REFERENCES

- APHA (American Public Health 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.
- Beckman Instruments Inc., 1982. Microtox System Operating Manual 015555879. Carlsbad, CA, USA, 62pp.
- Biesinger, K.E. et G.M. Christensen, 1972. Effects of various metals on survival, growth, reproduction and metabolism of Daphnia magna. J. Fish. Res. Board Can. 29: 1690-1700.
- Blaise, C., 1986. Micromethod for acute aquatic toxicity assessment using the green alga Selenastrum capricornutum. Toxicity Assessment: An International Quarterly 1: 377-385.
- Environnement Canada, 1989a. Approche intégrée pour l'évaluation écotoxicologique de rejets industriels. Conservation et Protection, Région du Québec, 17pp.
- , 1989b. Acute lethality test using rainbow trout (Salmo gairdneri). Conservation and Protection, Env. Canada, Ottawa, 54pp.
- , 1987. Recommandations pour la qualité des eaux au Canada. Conseil canadien des ministres des ressources et de l'environnement, Ottawa, Ontario.
- EPA (Environmental Protection Agency), 1985a. Short-term methods for estimating the chronic toxicity of effluents and receiving waters to freshwater organisms. EPA/600-14.
- , 1985b. Methods for measuring the acute toxicity of effluents to freshwater organisms. EPA/600-13.

- , 1972. Water Quality Criteria 1972. Environmental Studies Board. Nat. Acad. Eng., Washington, D.C., EPA.R3.73.033.
- Fromm, P.O., 1970. Toxic action of water soluble pollutants on freshwater fish. EPA, Water Pollution Control Research Series, no 18050DST, Washington, D.C., 56 pp.
- 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.
- Vezeau, R. 1982. Protocoles d'échantillonnage, de préservation et de préparation des échantillons pour les analyses des polluants prioritaires. Environnement Canada, Service de Protection de l'Environnement, Région du québec, 35pp.

Tableau 1- Résultats des bio-tests sur l'échantillon composé de l'effluent du poste de neutralisation de l'usine Locweld (Candiac).

BIO-TESTS	RESULTATS
CL50 truite arc-en-ciel	< 1 UT1
CL50 tête-de-boule	< 1 UT1
CL50 Ceriodaphnia	< 1 UT1
CI50 algale	1 UTs1
CE50 Microtox	1 UTs1
Croissance en poids de la tête de boule	14.3 UTs1
Reproduction de Ceriodaphnia	7.1 UTc

Pimephales promelas

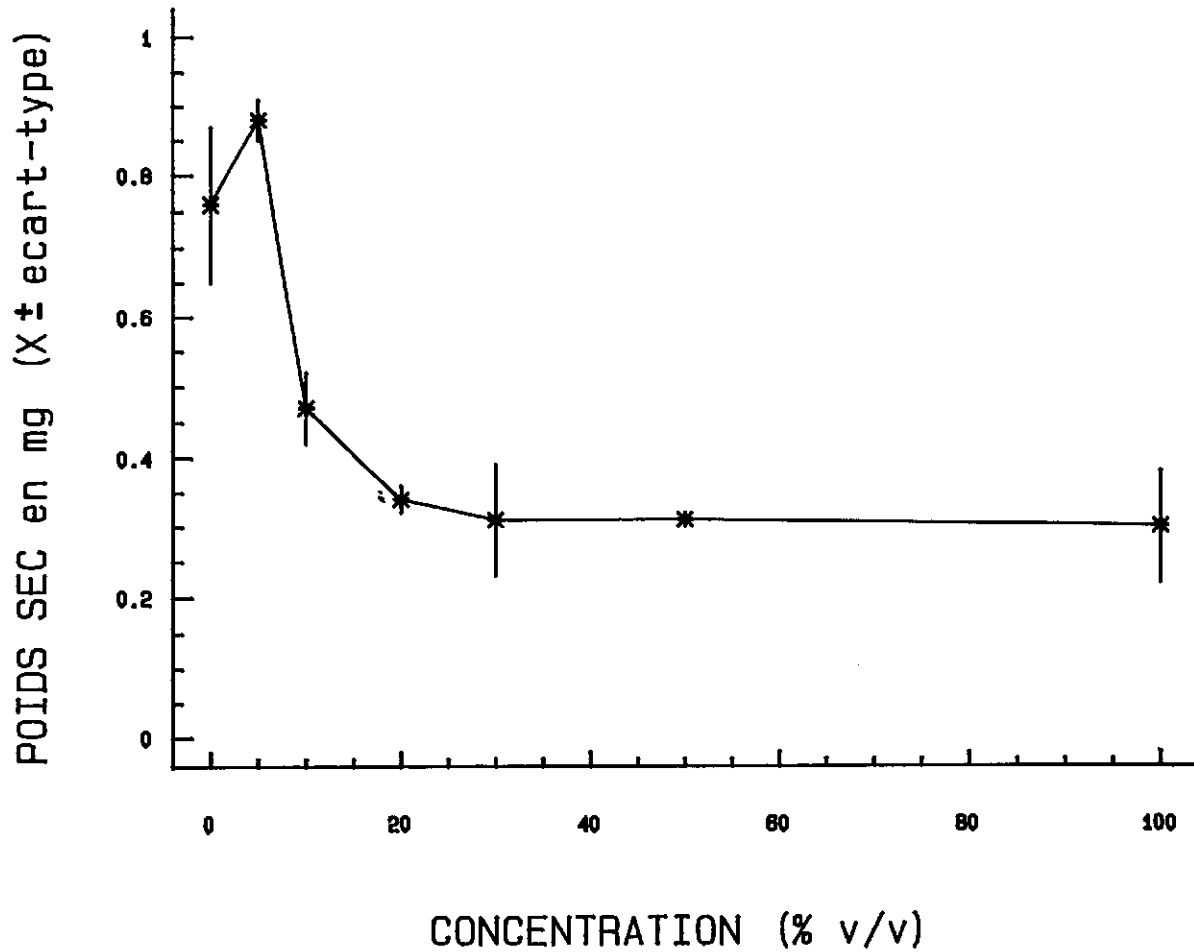


Figure 1. Inhibition de la croissance en poids chez les tête-de-boule exposés à diverses concentrations d'effluent.

Ceriodaphnia reticulata

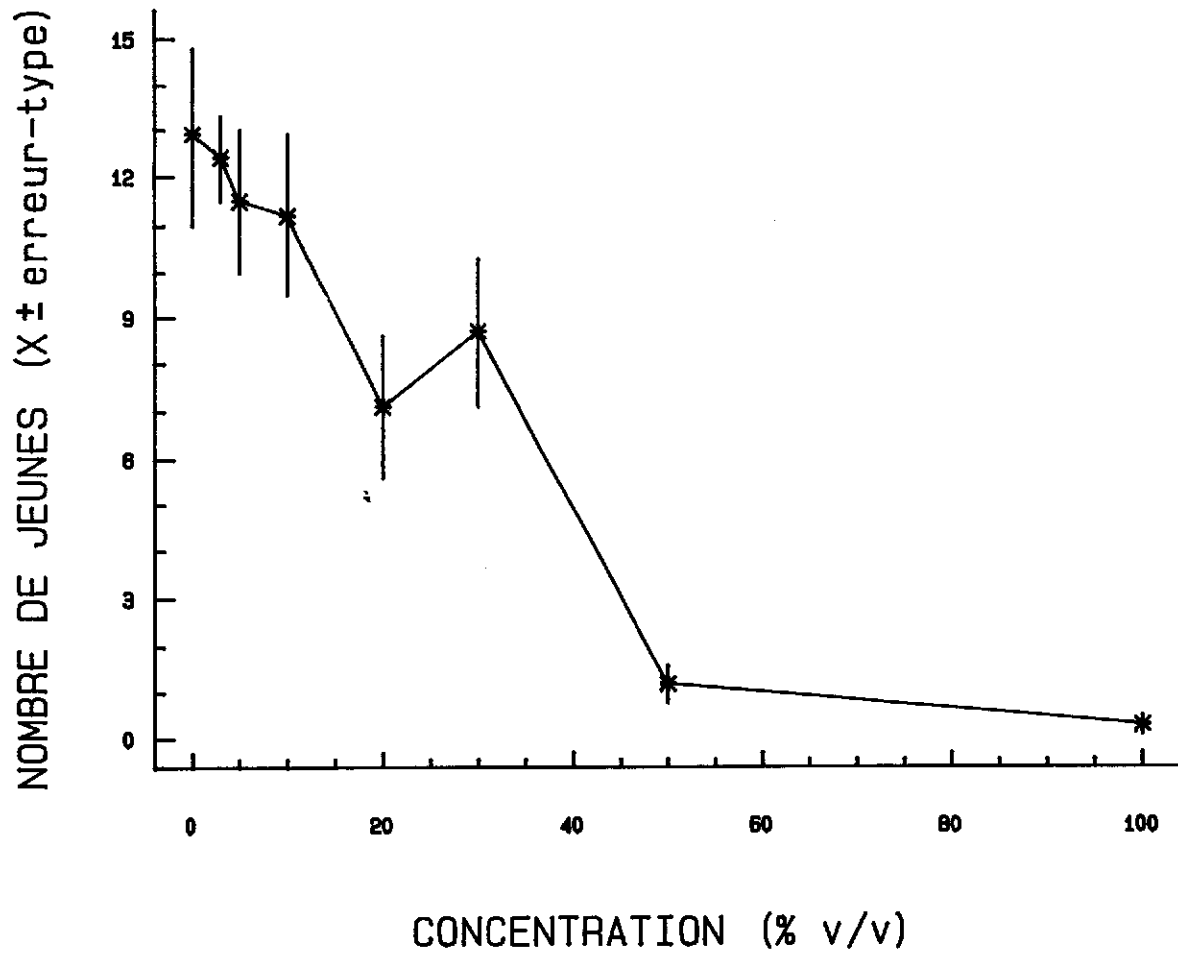
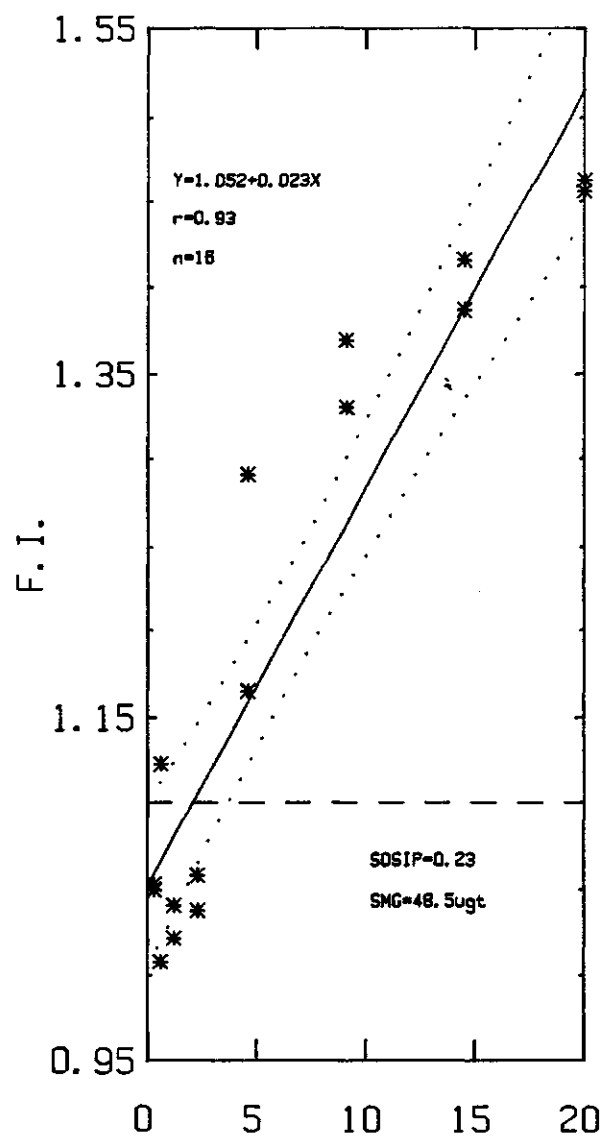


Figure 2. Inhibition de la reproduction chez les cladocères exposés à diverses concentrations d'effluent.

DOSE-REPONSE GENOTOXIQUE

LOCWELD 753-1.16 (+S9)



DOSE-REPONSE GENOTOXIQUE

LOCWELD 753-1.16 (-S9)

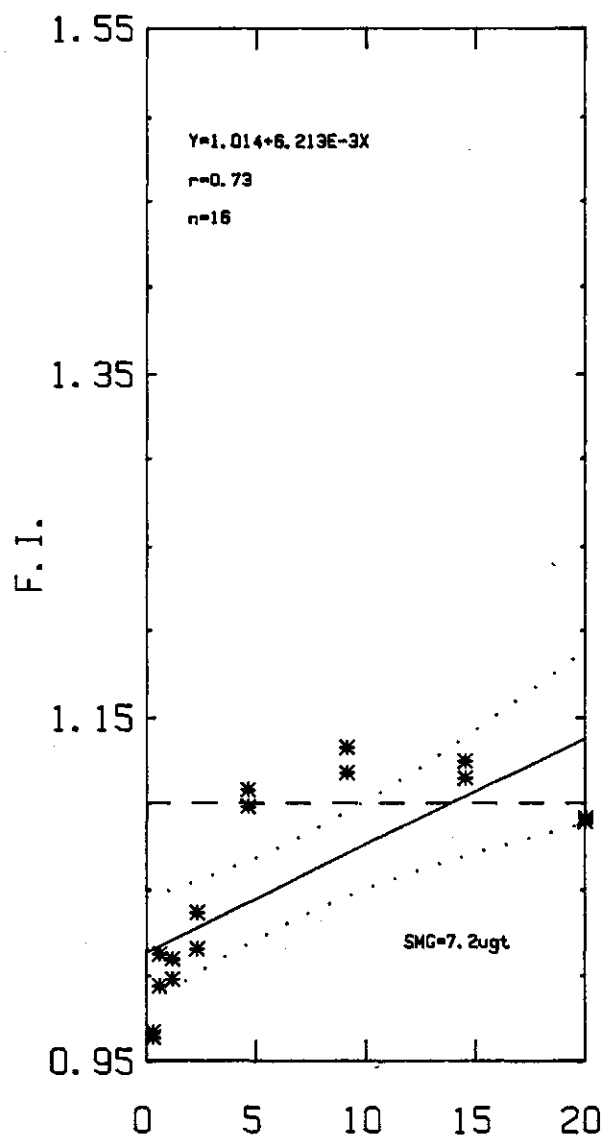


Figure 3. Dose-réponse génotoxique de chaque test.

ANNEXE 1

**Données analytiques de la firme Sodexen
Echantillonnage du 23 au 24.02.89 pour l'évaluation
écotoxicologique de l'usine LOCWELD (Candiac)**

LOCKWELD INC.TABLERAU 9RÉSULTAT D'ANALYSEPOINT D'ÉCHANTILLONNAGE: REFLUENTS DU POSTE DE NEUTRALISATIONCode de l'effluent: 9B415Date de l'échantillonnage: 02/89/23-24Débit (m³ sec⁻¹): 0,000798*

<u>CODE DU PARAMÈTRE</u>	<u>DESCRIPTION</u>	<u>CONCENTRATION</u>
00631	CNTOT	0,02 mg/l
00330	Zn	7,40 ppm
00451	Cr	0,57 ppm
00301	Pb	0,18 ppm
00440	Cu	0,43 ppm
00320	Cd	0,03 ppm
00430	Ni	0,36 ppm
00820	DCO	3,18 mg/l
00710	NH ₃	9,50 mg/l-N
00700	TKN	10,20 mg/l-N
00870	COT	8,00 mg/l
00180	Matières extractibles au fréon	2,44 ppm
00110	Solides en suspen- sion	340,00 mg/l
00130	Solides dissous	1188,00 mg/l

* NOTE: Débit du 22/02 - 23/02/89

ANNEXE 2

**Résultats des analyses statistiques
effectuées par la firme Le Groupe Environnemental
sur les bioessais avec Ceriodaphnia et tête-de-boule**

INPUT DATA TABLE

lockwood - film growth

Conc. Replicates -->

1	.84	.69
2	.86	.90
3	.43	.50
4	.32	.36
5	.25	.36
6	.30	.31
7	.24	.36

RESULTS OF SEQUENTIAL COMPARISONS USING THE DUNNETTS TEST

For this set of data, the minimum difference that can be
Detected as statistically significant is .180 .
This represents a 23.6% reduction in the mean.
Response from the control.
 $T = 2.82$

CALCULATED T VALUES

Concentration Number	Ti
2	-1.80
3	4.64
4	6.56
5	7.15
6	7.16
7	7.25

There is no significant difference between concentration 2 and control.

=> There is significant difference between concentration 3 and control.

=> There is significant difference between concentration 4 and control.

=> There is significant difference between concentration 5 and control.

=> There is significant difference between concentration 6 and control.

=> There is significant difference between concentration 7 and control.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SUM OF SQ.	MEAN SQ.	CALC F	TAB F(0.05)
AMONG	6	.702	.117	28.584	3.870
WITHIN	7	.029	.004		
TOTAL	13	.730			

INPUT DATA TABLE

Conc. Replicates -->

1	.80	.90
2	.70	.80
3	.90	.80
4	.80	.80
5	.60	.80
6	.70	.90
7	.50	.50

TRANSFORMED DATA TABLE

Note: Transformation number 4 was used for this set of data

Conc. Replicates -->

1	1.11	1.25
2	.99	1.11
3	1.25	1.11
4	1.11	1.11
5	.89	1.11
6	.99	1.25
7	.79	.79

RESULTS OF SEQUENTIAL COMPARISONS USING THE DUNNETTS TEST

For this set of data, the minimum difference that can be
Detected as statistically significant is .271 .
This represents a 31.92 reduction in the mean.
Response from the control.
T = 2.82

CALCULATED T VALUES

Concentration Number	Ti
2	1.17
3	.00
4	.65
5	1.65
6	.53
7	3.57

There is no significant difference between concentration 2 and control.
There is no significant difference between concentration 3 and control.
There is no significant difference between concentration 4 and control.
There is no significant difference between concentration 5 and control.
There is no significant difference between concentration 6 and control.

=> There is significant difference between concentration 7 and control.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SUM OF SQ.	MEAN SQ.	CALC F	TAB F(0.05)
AMONG	6	.227	.038	3.126	3.870
WITHIN	7	.085	.012		
TOTAL	13	.311			

INPUT DATA TABLE

Loxoveld - Ceriodaphnia

Conc. Replicates -->

1	21.00	.00	14.00	10.00	12.00	9.00	14.00	17.00	19.00	13.00
2	11.00	12.00	13.00	9.00	13.00	14.00	19.00	11.00	11.00	11.00
3	8.00	20.00	14.00	13.00	7.00	7.00	14.00	15.00	4.00	13.00
4	13.00	14.00	11.00	11.00	9.00	14.00	.00	13.00	7.00	20.00
5	4.00	7.00	4.00	12.00	11.00	.00	2.00	14.00	10.00	7.00
6	13.00	14.00	9.00	.00	8.00	13.00	6.00	.00	10.00	10.00
7	.00	.00	.00	3.00	4.00	1.00	2.00	.00	1.00	1.00
8	2.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	.00	1.00

RESULTS OF SEQUENTIAL COMPARISONS USING THE DUNNETTS TEST

For this set of data, the minimum difference that can be
Detected as statistically significant is 4.500 .
This represents a 34.9% reduction in the mean.
Response from the control.
T = 2.39

CALCULATED T VALUES

Concentration Number	Ti
2	.27
3	.74
4	.90
5	3.08
6	2.44
7	6.21
8	6.69

There is no significant difference between concentration 2 and control.
There is no significant difference between concentration 3 and control.
There is no significant difference between concentration 4 and control.

=> There is significant difference between concentration 5 and control.

=> There is significant difference between concentration 6 and control.

=> There is significant difference between concentration 7 and control.

=> There is significant difference between concentration 8 and control.

ANOVA TABLE

SOURCE	DF	SUM OF SQ.	MEAN SQ.	CALC F	TAB F(0.05)
AMONG	7	1721.887	245.984	13.879	2.140
WITHIN	72	1276.100	17.724		
TOTAL	79	2997.988			