

Université du Québec
INRS-Institut Armand Frappier

Efficacité d'un procédé membranaire pour le traitement des eaux usées

Par
Djouder Hamida

Mémoire présenté
pour l'obtention
du grade de Maître ès sciences (M. Sc.)
en sciences expérimentales de la santé

Jury d'évaluation

Examineur externe
Examineur interne
Directeur de recherche
Co-directeur de recherche

Philip Spear, Université du Québec à Montréal
Jacques Bernier, INRS-Institut Armand-Frappier
Michel Fournier, INRS-Institut Armand-Frappier
Rémi Lebrun, Université du Québec à Trois-Rivières

RÉSUMÉ

Depuis quelques années les gouvernements encouragent les entreprises à trouver de meilleures techniques pour la filtration des eaux usées ou contaminées. La recherche de nouvelles technologies de traitement des eaux plus efficaces et plus écologiques est l'un des plus importants enjeux de notre société moderne, autant sur le plan économique que social. L'eau est de plus en plus polluée et le phénomène d'urbanisation entraîne des quantités d'effluents à traiter qui augmentent sans cesse. Il devient donc nécessaire de trouver une technique qui est à la fois efficace, durable et économiquement rentable.

Notre projet consiste à évaluer l'efficacité d'un système de filtration membranaire à traiter des eaux contaminées. La première partie est consacrée à la filtration des effluents de la Station d'épuration de la Ville de Montréal, des eaux souterraines de la Ville de Mercier et du Technoparc par des membranes de nanofiltration conçues par la compagnie Hayka Inc. (Montréal). Suite aux filtrations, des tests colorimétriques ont été réalisés pour déterminer les propriétés physicochimiques des eaux filtrées. Dans la deuxième partie, des bactéries (*Vibrio fischeri*), des algues (*Pseudokirchneriella subcapitata*) et des cellules immunitaires de truites mouchetées (*Salvelinus fontinalis*) ont été exposées aux eaux traitées. L'observation de la viabilité de ces trois types de cellules a permis d'analyser la toxicité des eaux traitées. De plus, l'influence de ces eaux sur l'activité phagocytaire des cellules immunitaires des truites mouchetées a été étudiée.

Les résultats montrent que les éléments chimiques sont remarquablement réduits par les procédés membranaires conçus par Hayka. Une stimulation de la luminescence des bactéries *V. fischeri* et de la croissance des algues *P. subcapitata* a été observée pour les effluents filtrés comparativement aux résultats obtenus dans les cas des effluents non filtrés.

Cependant, une inhibition de la luminescence (CI25 et CI50) n'est observée que pour les bactéries *V. fischeri* exposées, respectivement aux effluents non filtrés de la Station d'épuration de la Ville de Montréal et à ceux non filtrés de l'unité du traitement des eaux souterraines de la Ville de Mercier. D'autre part, une inhibition de la croissance (CI50) des algues a été observée uniquement pour les effluents de l'UTES non filtrés et filtrés par les procédés membranaires. Enfin, les effluents de Montréal, ceux de l'UTES de

Mercier non filtrés et filtrés par les procédés membranaires ainsi que les eaux traitées des trois zones du Technoparc n'ont pas affecté la viabilité, la capacité et l'efficacité phagocytaire des cellules de truites mouchetées. Alors que, les effluents de l'UTES traités par la membrane fine (NF₂) ont affecté significativement la viabilité des cellules.

Les résultats obtenus montrent que les procédés membranaires permettent d'améliorer la qualité des effluents. Par contre, des ajustements doivent être apportés aux membranes pour filtrer efficacement certains types d'eaux usées.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier mon directeur de recherche Michel Fournier de m'avoir accueillie au sein de son laboratoire. Un énorme merci à mon Co-directeur Rémi Lebrun de m'avoir encouragée et aidée à faire cette maîtrise.

Je tiens également à remercier Mme Pauline Brousseau pour son aide et ses précieux conseils, ainsi que les membres du laboratoire de Michel Fournier pour leurs conseils et les discussions constructives qui ont animé mes deux années passées à l'INRS.

Mes remerciements vont aussi à Mme Jocelyne Ash pour sa gentillesse et sa disponibilité, les membres du laboratoire de Mme Manon Harwood d'Environnement Canada ainsi que Patrick Cejka et Christine Yelle de la Station d'épuration de la Ville de Montréal.

Je tiens à remercier également mes amis Nora Boudjedaimi et Ahmed Aouchiche pour leur soutien et leurs encouragements.

Un merci tout particulier pour mon mari Mohand Amokrane pour sa présence à mes côtés, sa patience et sa compréhension.

En fin, je remercie l'INRS, la fondation Armand-Frappier ainsi que la compagnie Hayka Inc. pour leur support financier accordé tout le long de ma maîtrise.

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ	ii
REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES FIGURES	viii
LISTE DES TABLEAUX	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xii
INTRODUCTION	1
1. REVUE DE LITTÉRATURE	5
1.1 Procédés de traitement des eaux contaminées	5
1.1.1 Différents procédés du traitement des eaux contaminées	5
1.1.1.1 Le bioréacteur à membrane	6
1.1.1.2 Les procédés électrochimiques	6
1.1.1.3 La filtration membranaire	7
1.1.1.3.1 La microfiltration	8
1.1.1.3.2 L'ultrafiltration	9
1.1.1.3.3 La nanofiltration	10
1.1.1.3.4 L'osmose inverse	11
1.1.2 Aperçu sur la compagnie Hayka Inc. et ses procédés membranaires	12
1.1.3 Station d'épuration des eaux usées de Ville de Montréal	12
1.1.4 Unité du traitement des eaux souterraines de Ville Mercier	13
1.1.5 Site du Technoparc	14
1.2 L'évaluation de la toxicité	15
1.2.1 La bactérie <i>Vibrio fischeri</i>	16
1.2.2 Les algues <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	18
1.2.3 Les truites <i>Salvelinus fontinalis</i>	20
1.3 Objectif du projet	21

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES	22
2.1 La filtration membranaire	22
2.1.1 Station d'épuration des eaux usées de Montréal	22
2.1.2 Unité du traitement des eaux souterraines de Ville Mercie	25
2.2.3 Filtration par les membranes de HAYKA	26
2.2.4 Site du Technoparc	27
2.2 Tests physicochimiques	29
2.3 Tests de toxicité aiguë avec les bactéries <i>V. fischeri</i>	29
2.3.1 Préparation de l'échantillon	29
2.3.2 Ajustement de la salinité	30
2.3.3 Préparation du toxique de référence	30
2.3.4 Préparation des dilutions	30
2.3.5 Préparation du réactif bactérien lyophilisé	30
2.3.6 Mesures et calculs	31
2.4 Test de toxicité chronique avec les algues <i>P. subcapitata</i>	33
2.4.1 Milieu pour culture gélosée	33
2.4.2 Milieu de culture liquide	34
2.4.3 Méthode de culture	36
2.4.4 Protocole d'analyse	37
2.4.4.1 Préparation du milieu d'enrichissement	37
2.4.4.2 Préparation des solutions d'essai	37
2.4.4.3 Préparation de l'inoculum algal	38
2.4.5 Mesures et calculs	39
2.5 Tests immunologiques avec la truite mouchetée <i>S. fontinalis</i>	40
2.5.1 Milieux de culture	40
2.5.2 Euthanasie et prélèvement du pronéphros	40
2.5.3 Isolement	41
2.5.4 Compte cellulaire	41
2.5.5 Viabilité	41
2.5.6 Évaluation de la phagocytose	43
2.6 Statistiques	45

3. RÉSULTATS ET ANALYSES	46
3.1 Tests physicochimiques	46
3.1.1 La station d'épuration des eaux usées de Montréal	46
3.1.2 Les effluents de l'UTES de Mercier	47
3.1.3 Les eaux souterraines du Technoparc	48
3.2 Tests écotoxicologiques	49
3.2.1 Test de toxicité aiguë avec les bactéries <i>V. fisheri</i>	51
3.2.1.1 La station d'épuration des eaux usées de Montréal	51
3.1.3.1 Les effluents de l'UTES de Mercier	52
3.1.3.2 Les eaux souterraines du Technoparc	55
3.2.2 Test de toxicité chronique avec les algues <i>P. subcapitata</i>	57
3.2.2.1 La station d'épuration des eaux usées de Montréal	57
3.2.2.2 Les effluents de l'UTES Ville de Mercier	60
3.2.2.3 Les eaux souterraines du Technoparc	65
3.2.3 Tests immunologiques	70
5. DISCUSSION	77
5.1 Test de toxicité aiguë avec les bactéries <i>V. fisheri</i>	78
5.2 Test de toxicité chronique avec les algues <i>P. subcapitata</i>	80
5.3 Tests immunologiques	82
6. CONCLUSION	83
7. PERSPECTIVES	84
RÉFÉRENCES	85

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Schéma de classification des membranes de filtration en fonction de leur pores et des composants à séparer	8
Figure 2: Image des pores d'une membrane céramique prise au microscope à force atomique (mode contact et air ambiant).....	9
Figure 3: Image d'une membrane de nanofiltration Oxyde de polyphénile sulfoné (SPPO) au microscope à force atomique.....	11
Figure 4: La bactérie Vibrio fischeri	17
Figure 5: Observation des algues Pseudokirchneriella subcapitata au microscope optique (X 400).....	19
Figure 6: La truite mouchetée (Salvelinus fontinalis ou omble de fontaine)	20
Figure 7: Procédé de traitement des eaux usées	23
Figure 8: Diagramme du procédé de l'UTES de la Ville de Mercier.....	25
Figure 9: Système de filtration fourni par HAYKA Inc.....	26
Figure 10: Bancs d'essais conçus par Hayka	27
Figure 11: Procédure d'essais par procédés membranaires	28
Figure 12: Configuration de la microplaque lors d'un essai.....	38
Figure 13: Modèle du patron de la viabilité.....	43
Figure 14: Le patron de la phagocytose.....	44
Figure 15: Courbes standards	50
Figure 16: La courbe de croissance algale	57
Figure 17: La croissance des algues par apport aux concentrations E_1B	58
Figure 18: La croissance des algues par apport aux concentrations E_1TNF_1	59
Figure 19: Courbe pour déterminer la CI 25 et la CI 50.....	62
Figure 20: La présentation graphique pour les effluents de l'UTES E_1TNF_1	64
Figure 21: L'histogramme pour le nombre de cellules et l'inhibition de la croissance algale pour $E_{111}TZ_1$.....	66
Figure 22: L'histogramme pour le nombre de cellules et l'inhibition de la croissance algale pour $E_{111}TZ_2$.....	67

Figure 23: L’histogramme pour le nombre de cellules et l’inhibition de la croissance algale pour E_{III}TZ₃.....	68
Figure 24: La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de la station d’épuration des eaux usées de Montréal pour 21 heures	71
Figure 25: La Viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de la station d’épuration des eaux usées de Montréal pour 24 heures	72
Figure 26: La Viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de l’UTES Ville de Mercier pour 21 heures.....	73
Figure 27: La Viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de l’UTES Ville de Mercier pour 24 heures.....	74
Figure 28: La Viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux eaux du Technoparc Ville de Montréal pour 21 heures	75
Figure 29 : La Viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux eaux du Technoparc Ville de Montréal pour 24 heures.....	76

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Propriétés des membranes (ordre de grandeur)	2
Tableau 2: Taux d'enlèvements de polluants en 2007	13
Tableau 3: Description de la taxonomie de <i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>.....	19
Tableau 4: Solutions concentrées d'éléments nutritifs pour le maintien des cultures gélosées	33
Tableau 5: Solutions concentrées d'éléments traces pour le maintien des cultures gélosées	33
Tableau 6: Solutions d'éléments nutritifs pour le milieu de croissance des cultures mères d'algues.....	35
Tableau 7: Concentrations finales de nutriments dans le milieu de croissance liquide des cultures mères d'algues	36
Tableau 8: Les paramètres d'acquisition du cytomètre pour la viabilité.	42
Tableau 9: Les paramètres d'acquisition du cytomètre pour la phagocytose.	44
Tableau 10: Propriétés physicochimiques des effluents de la station d'épuration des eaux usées de la Ville de Montréal(E_I).	47
Tableau 11: Propriétés physicochimique des effluents de l'UTES de la Ville de Mercier(E_{II}).....	48
Tableau 12: Qualité physico-chimique des trois zones du Technoparc(E_{III}) de la Ville de Montréal (Lebrun et al., 2007).	49
Tableau 13: Les effluents de la station d'épuration de la Ville de Montréal (E_IB) ..	51
Tableau 14: Les effluents traités par la nanofiltration 1 (E_ITNF₁).....	52
Tableau 15: Les effluents traités par la nanofiltration 2 (E_ITNF₂).....	52
Tableau 16: Les effluents de l'UTES de la Ville de Mercier (E_{II}B)	53
Tableau 17: Les effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 1(E_{II}TNF₁).....	54
Tableau 18: Les effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 2 (E_{II}TNF₂).....	54
Tableau 19: Résultats des trois puits des eaux du Technoparc (E_{III}).....	56
Tableau 20: Les effluents E_IB.....	58
Tableau 21: Les effluents traités E_ITNF₁.....	59

Tableau 22: Les effluents traités $E_I TNF_2$	60
Tableau 23: Les effluents de l'UTES $E_{II}B$	61
Tableau 24: Les effluents $E_{II} TNF_1$	63
Tableau 25: Les effluents $E_{II} TNF_2$	65
Tableau 26: Les eaux du Technoparc $E_{III} ETZ_1$	65
Tableau 27: Les eaux du Technoparc $E_{III} ETZ_2$	66
Tableau 28: Tableau 28: Les eaux du Technoparc $E_{III} ETZ_3$	67
Tableau 29: Résultats du test de Bodycote	69

LISTE DES ABREVIATIONS

Al: Aluminium

Ba: Baryum,

AFM : Atomic Force Microscopic (Microscope à force atomique)

Ca: Calcium

CEAEQ : Centre d'Expertise en Analyse Environnementale du Québec.

CEMRS : Centre d'Excellence de Montréal en Réhabilitation de Sites

CI25 : Concentration inhibitrice à 25%

CI50: Concentration inhibitrice à 50%

Cl: Chlore

COT: Carbone Organique Total,

Cr: Chrome

3D : Troisième dimension

Da : Dalton

DCO: Demande chimique en oxygène,

E_IB : Effluents de la station d'épuration des eaux usées de Montréal

E_{II}B : Effluents de l'Unité du Traitement des Eaux Souterraines

E_{III}BZ1 : Eaux souterraines brutes de la zone 1

E_{III}BZ2 : Eaux souterraines brutes de la zone 2

E_{III}BZ3 : Eaux souterraines brutes de la zone 3

E_{III}TZ1 : Eaux souterraines traitées par procédé membranaire de la zone 1

E_{III}TZ2 : Eaux souterraines traitées par procédé membranaire de la zone 2

E_{III}TZ3 : Eaux souterraines traitées par procédé membranaire de la zone 3

E_{II}TNF₁ : Effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 1

E_{II}TNF₂ : Effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 2

E_ITNF₁ : Effluents de la station d'épuration des eaux usées de Montréal traités par la nanofiltration 1

E_ITNF₂ : Effluents de la station d'épuration des eaux usées de Montréal traités par la nanofiltration 2

ETS : École de Technologies Supérieures
Fe: Fer
FL1-H: Fluorochrome Light.1
FL3-H: Fluorochrome Light.3
FSC: Forward Scatter
g: gravitation
HAP : Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques
Inc. : Incorporé
K: Potassium
MF : Microfiltration
Mg: Magnesium
Na: Sodium
NF: Nanofiltration
NH3-N: Azote ammoniacal
OI: Osmose inverse
PI: Propidium iodure
PNAS: Proceedings of the National Academy of Sciences
Rpm: Rotation par minute
S: Siemens
SO₄: Sulphate
Sr: Strontium.
SSC: Side scatter
UF : Ultrafiltration
UQTR : Université du Québec à Trois-Rivières
USEPA: United States Environmental Protection Agency
UTES : Unité du Traitement des Eaux Souterraines
Λ: Conductivité

Abréviations des formules chimiques

Composés	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Chlorure de calcium dihydraté
$\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Dichlorure de cobalt hexahydraté
$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Cobalt(II) sulfate heptahydraté
$\text{CuCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Dichlorure de cuivre dihydraté
$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Sulfate d'ammonium ferreux
$\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Chlorure ferrique hexahydraté
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Ferreux sulfate heptahydraté
H_2SO_4	Acide sulfurique
H_3BO_3	Acide borique
HCl	Acide chlorhydrique
K_2HPO_4	Phosphate de potassium (dibasique anhydre)
KH_2PO_4	Phosphate de potassium (monobasique)
KOH	Hydroxyde de potassium
$\text{MgCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$	Chlorure de magnésium hexahydraté,
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	Chlorure de manganèse tétrahydraté
ZnCl_2	Chlorure de zinc
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Sulfate de magnésium heptahydraté
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	Sulfate de manganèse
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Éthylènediamine tétracétate, disodique dihydraté
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	Molybdate de sodium dihydraté
NaCl	Chlorure de sodium
NaHCO_3	Bicarbonate de sodium
NaN_3	Azide de sodium
NaNO_3	Nitrate de sodium
NaOH	Hydroxyde de sodium
ZnCl_2	Dichlorure de zinc
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	Sulfate de zinc heptahydraté
EDTA ($\text{C}_{10} \text{H}_{14} \text{O}_8 \text{N}_2$)	Acide éthylènediamine-tétracétique

INTRODUCTION

L'industrialisation, amorcée au Royaume Uni au XVIII^{ème} siècle, s'est propagée dans tous les pays développés. Elle a apporté un confort et une multitude de technologies qui ont changé les comportements et les habitudes de l'homme. Cependant, ce mode de vie choisi par l'homme a créé beaucoup de pollution qui a modifié notre écosystème et qui menace la disparition d'une multitude d'espèces végétales et animales. Parmi les pollutions qui menacent notre écosystème : la contamination des eaux souterraines, des rivières et des océans par les déchets domestiques et industriels est de plus en plus préoccupante.

À cet effet, les gouvernements (Communiqué de presse, 2009; Réseau environnement, 2009; Technologies du développement durable Canada, 2008) encouragent les entreprises à trouver les meilleures techniques pour le traitement des eaux usées ou contaminées. La recherche de nouvelles techniques de traitement des eaux, plus efficaces et plus écologiques, est l'un des plus importants enjeux de notre société moderne, autant sur les plans économique que social. Mais il faut aller plus loin et introduire les nouvelles technologies propres et intensives, basées sur les nanotechnologies, en les intégrant dans les procédés de fabrication pour réduire la pollution anthropique tout en valorisant au maximum les ressources. Pour pouvoir évaluer l'efficacité de cette intégration nous préconisons une approche systémique et le bilan d'énergie comme outil d'analyse dans le cadre du développement durable (Lebrun, 2011).

Plusieurs techniques sont utilisées. Nous pouvons citer, les réactions chimiques, biochimiques ou électrochimiques ainsi que les séparations physico-chimiques. Les bioréacteurs à membranes représentent un excellent exemple de procédé intensif mettant en œuvre des nanotechnologies permettant de réaliser des synergies entre les réactions biochimiques et les séparations physico-chimiques.

Dans notre projet, par contre, nous allons utiliser une nouvelle technologie qui est un procédé séparatif physicochimique. Bien que le phénomène à la base de cette séparation par membranes ait été mis en évidence dès le dix-huitième siècle (Berland et Juery ,2002), le développement industriel des techniques membranaires n'a connu son

essor que dans les années 60. En effet, c'est en 1956 que, Dr. S. Sourirajan a eu une interprétation lumineuse de la loi d'excès de Gibbs et a permis la découverte des premières membranes d'osmose inverse en acétate de cellulose asymétriques pouvant dessaler l'eau de mer (Loeb et Sourirajan). Actuellement, plus de 60% de l'eau potable à partir de l'eau de mer est produite par des procédés membranaires soit 45 milliards de litres par jour.). Grâce au développement de cette nanoscience, d'autres procédés génériques ont été créés. Vers les années 70, les modules de types spiraux et fibres creuses ont été développés aux États-Unis (Girard, 1996).

Il existe maintenant de nombreux procédés membranaires à gradient de pression qui mettent en œuvre des interactions moléculaires à l'échelle nanométrique dans des espaces confinés (Pores), eux aussi nanométriques. Nous pouvons citer La microfiltration (MF), l'ultrafiltration (UF), la nanofiltration (NF) et l'osmose inverse (OI). Ces procédés se distinguent par la taille de leurs pores et les interactions entre les molécules en présence, le matériau membranaire et le solvant (Xu et al., 1999).

Leur classification est représentée dans le **Tableau 1**.

Tableau 1: Propriétés des membranes (ordre de grandeur) (Bouchard et al., 2000)

Propriété	MF	UF	NF	OI
Taille des pores (couche superficielle)	De 0,1 à 10 μm	De 1 nm à 100nm	1nm	n-d

La nanofiltration est le procédé choisi dans ce projet. Par définition, la nanofiltration (NF) est située entre l'ultrafiltration (UF) et l'osmose inverse (OI). Elle permet de travailler sous des pressions modérées (de 5 à 15 bars) et de séparer des solutés de masse molaire comprise entre 300 et 1000 Da, avec des pores de l'ordre du nanomètre. Actuellement, la nanofiltration connaît des applications considérables pour le traitement des eaux usées, des eaux saumâtres ainsi que pour la production d'eau potable à partir d'eaux peu chargées. La NF est aussi fortement utilisée dans l'agroalimentaire, la pétrochimie, la chimie fine, l'industrie pharmaceutique, l'industrie électronique, les pâtes et papiers, le textile etc. (Abouzaid et al., 2003). Le mécanisme de séparation en NF peut

être exprimé en fonction de la charge et de la taille des molécules, relativement à la taille des pores et des interactions entre le matériau membranaire et les molécules en présence sous l'effet des forces motrices (Noël et al., 2000). La modélisation des mécanismes ainsi que la modélisation de leur intégration dans le canon des opérations unitaires du génie chimique a toujours été un domaine de recherche d'actualité (Lebrun, 2001)

Ces procédés de NF sont, en général, appréciés pour leur faible consommation énergétique et leur bonne sélectivité (Nagarale et al., 2006). Ils sont donc des procédés propres, contribuent à la réduction des gaz à effet de serre, et sont des outils facilement mis en œuvre dans un cadre de développement durable.

La pollution de l'eau, qui couvre de multiples formes, est susceptible d'influer sur la santé de la population canadienne, l'économie et les écosystèmes. À titre d'exemple, le rejet de nutriments pour les végétaux, comme le phosphate et l'azote, peut favoriser la prolifération d'algues malodorantes, inesthétiques et potentiellement toxiques. Le rejet de substances toxiques, comme le mercure, les pesticides et les produits chimiques industriels, peut perturber la croissance et la survie des espèces aquatiques. Ces toxines peuvent aboutir éventuellement dans la chair des poissons, des mollusques, des crustacés et des mammifères marins utilisés pour la consommation humaine. Les micro-organismes sont également préoccupants en raison de leur capacité à causer des maladies d'origine hydrique (Environnement Canada, 2009). Le problème de la contamination en azote ammoniacal est l'élément le plus remarqué surtout pour les eaux souterraines du Technoparc de la Ville de Montréal n'étant pas traitées actuellement. Il a été constaté aussi pour les effluents de la station d'épuration des eaux usées de la Ville de Montréal qui représentent une menace potentielle pour la santé des espèces sauvages vivant dans le milieu aquatique (Salo et al., 2007). Enfin, le problème des lagunes de Mercier persiste malgré la mise en place d'une Unité de Traitements des Eaux Souterraines (UTES) (Codina, 2007; Communiqué de presse, 2007; Beaudet, 1999; Bureau d'audiences publiques sur l'environnement, 1994).

L'objectif de ce projet consiste à évaluer, à l'aide de tests de toxicité sur les différentes eaux traitées par NF, l'efficacité de filtration membranaire adaptée à chaque problématique spécifique. À cet effet, les effluents de la station d'épuration de la Ville de Montréal, les eaux souterraines de la Ville de Mercier et du Technoparc de la Ville de

Montréal, toutes hautement toxiques pour l'homme et pour l'environnement, ont d'abord été filtrées par des procédés à membranes conçus et développés par la compagnie Hayka Inc. située à Montréal. Par la suite, ces eaux filtrées ont été soumises à des tests de toxicité aiguë avec la bactérie *Vibrio fischeri* ainsi qu'à des tests de toxicité chronique en utilisant les algues unicellulaires *Pseudokirchneriella subcapitata*. Enfin, des tests immunologiques ont été effectués afin de déterminer la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules immunitaires de truites mouchetées exposées aux eaux non filtrées et aux eaux filtrées par le procédé à membranes de Hayka Inc.

1. REVUE DE LITTÉRATURE

Ce chapitre est composé de trois sections. La première est consacrée à la description des procédés de traitement des eaux contaminées, la présentation de la compagnie HAYKA Inc. qui a conçu et opéré le système de filtration membranaire et à la description des trois sites (Station de traitement des eaux usées de la Ville de Montréal, l'Unité de traitement des eaux souterraines de la Ville de Mercier et le site du Technoparc de la Ville de Montréal) qui ont fourni les effluents à traiter. La deuxième section décrit les trois espèces utilisées pour évaluer la toxicité des effluents traités et la dernière section expose l'objectif de ce projet

1.1 Procédés de traitement des eaux contaminées

Les problèmes liés à l'environnement, en particulier, la pollution chimique et biologique de l'eau sont devenus une préoccupation majeure pour l'ensemble de la population et une priorité pour les autorités publiques. A titre d'exemple, les eaux usées chargées des métaux lourds sont une source importante de toxicité pour les écosystèmes aquatiques et ceci inquiète de plus en plus les populations. Un autre aspect qui commence à être, de plus en plus, pris en compte est la réutilisation des eaux usées traitées par les industriels dans le cadre du développement durable, de la gestion améliorée de l'eau et de la minimisation des risques sanitaires (Crini et Badot, 2007). À l'échelle mondiale, le traitement des eaux usées constitue le premier enjeu de santé publique. Ceci a encouragé le développement industriel et a permis d'introduire de nouvelles stratégies susceptibles de contrôler et de minimiser les problèmes liés à la contamination des eaux à travers le monde. (Drioli et Giorno, 2010).

1.1.1 Différents procédés du traitement des eaux contaminées

Il existe plusieurs procédés de traitement des eaux contaminées. Ils peuvent être classés en quatre grandes catégories : procédé chimique, biologique, physique, biochimique. Les procédés membranaires, de type nanotechnologie de par la structure des

matériaux membranaires, mettent en œuvre des phénomènes physico-chimique à l'échelle nanoscopique, tout en permettant d'opérer à l'échelle macroscopique ouvrant des opportunités économiquement rentables pour les industries. De plus, comme le bioréacteur à membranes immergées, permet d'intégrer des réactions biochimiques dans le même procédé (Yamamoto et al., 2010).

1.1.1.1 Le bioréacteur à membrane

Le bioréacteur à membranes immergées est un système bactérien couplé avec une ou plusieurs membranes de type fibre creuse dont les diamètres de pores sont de l'ordre de 100 nm. Ce procédé permet donc la rétention des particules en suspension, des bactéries et des composés solubles en fonction de leurs tailles (colloïdes et certains ions pris dans le floc). Ce procédé, à basse consommation énergétique (très faible pression opératoire), a permis, grâce à un ingénieux contrôle dynamique de la couche limite de concentration, d'éliminer le colmatage irréversible tout en contrôlant l'accumulation réversible. La durée de vie des membranes a augmentée considérablement tout en diminuant les coûts de main d'œuvre. (Wen, et al., 2010 ; Courousse, 2006; Hernandez - Rojas, 2006).

1.1.1.2 Les procédés électrochimiques

L'électrochimie est une nouvelle approche basée sur l'utilisation d'électrodes bifonctionnelles en titane (Ti) enduites, d'un côté d'un photocatalyseur, et de l'autre d'un électrocatalyseur. Cette nouvelle technique combine ainsi deux méthodes d'oxydation avancée : la dégradation photochimique des polluants qui utilise la lumière ultraviolette (UV) lors d'une transformation photochimique et l'oxydation électrochimique qui utilise l'énergie électrique comme force motrice pour éliminer les polluants. L'étude de Matthew et ses collaborateurs, 2009 a démontré que la combinaison des deux méthodes est beaucoup plus efficace pour le traitement classique des effluents en créant, en plus d'une complémentarité, une synergie intéressante. (Asmussen et al., 2009). Le procédé électrochimique est très efficace dans la transformation en composés inorganiques des

matières organiques tels que : Les émulsions eau-huile, les phénols, les perturbateurs endocriniens, les hormones, les colorants organiques. De plus, après traitement, ce procédé produit moins de déchets qui peuvent alors, être traités à un coût moins élevé (Rudiger et al., 2003). Les inconvénients de ce procédé sont d'une part, le coût très élevé qu'exige son installation et d'autre part, la demande d'une consommation excessive en énergie (Rudiger et al., 2003).

1.1.1.3 La filtration membranaire

La filtration membranaire est un procédé nanotechnologique mettant en œuvre au niveau nanoscopique des interactions physico-chimiques utilisant une ou plusieurs membranes de nature organique ou inorganique comme structure poreuse organisée permettant de séparer l'eau de substances solubles, telles que les huiles micellaires, les substances organiques, les macromolécules et les métaux (particulaires ou ioniques). Il existe plusieurs types de procédés membranaires en fonction de la force motrice mise en œuvre et de la taille et la distribution en taille des pores.

Procédé à gradient de pression qui se distingue par la taille et le type de molécule qu'ils peuvent séparer. Ceci est expliqué par le schéma classifiant les membranes en fonction de leur taille de pore et de la nature des composants à séparer en interaction avec les matériaux des membranes (**Figure1**). Dans le schéma, nous distinguons la microfiltration (MF), l'ultrafiltration (UF), la nanofiltration (NF) et l'osmose inverse (OI) (Yazhen et al., 1999). Les technologies membranaires sont déjà reconnues dans de nombreux domaines comme des technologies très efficaces pour faire face aux nouveaux problèmes qui caractérisent le monde d'aujourd'hui (pollution de l'eau, pollution de l'air) et pour prévenir la pollution à l'avenir. Elles sont considérées comme des technologies dominantes, en particulier dans le dessalement des eaux de mer, le traitement des eaux usées et le rein artificiel (dialyse) (Drioli et Giorno, 2010).

Ces technologie membranaires sont, en général, appréciées pour leur faible consommation énergétique et leur bonne sélectivité. Elles sont donc des technologies

propres et contribuent à la réduction des gaz à effet de serre, donc des outils pour aider au développement durable.

Les membranes de filtration

Type de membrane	Non-poreux	Micro-poreux	Méso-poreux	Poreux			
Procédé membranaire	Osmose inverse Séparation gaz Pervaporation		Nanofiltration	Ultrafiltration		Microfiltration	
Taille des pores ou particules (m)	10^{-10}	10^{-9}	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}
Composants séparés	Vapeur gazeux Sels solubles		Sucres Protéines	virus	Bactéries	Émulsions	Colloïdes

Figure 1: Schéma de classification des membranes de filtration en fonction de leur pores et des composants à séparer (Giorno et Drioli, 2010)

Le tableau représente les différents procédés de filtration (MF, UF, NF, OI) sont classés en fonction de la taille des pores et les particules qu'ils peuvent séparer.

1.1.1.3.1 La microfiltration

La microfiltration est un procédé de séparation dont les pores des membranes sont compris entre 0,1 et 10 μm . La figure 2 représente l'image d'une membrane céramique prise au microscope à force atomique. Le diamètre des pores, comme le montre la figure, est d'environ 0,2 μm (Djouder, 2007). Cette membrane est utilisée pour concentrer les macromolécules (homogénat et cellules sanguines). Elle permet de purifier (stériliser) les liquides contenant des contaminants comme les bactéries, les teintures pigmentées, les

matières colloïdales et les matières en suspension. La microfiltration est fréquemment utilisée dans les applications de réutilisation des eaux usées (Field, 2010).

La membrane céramique

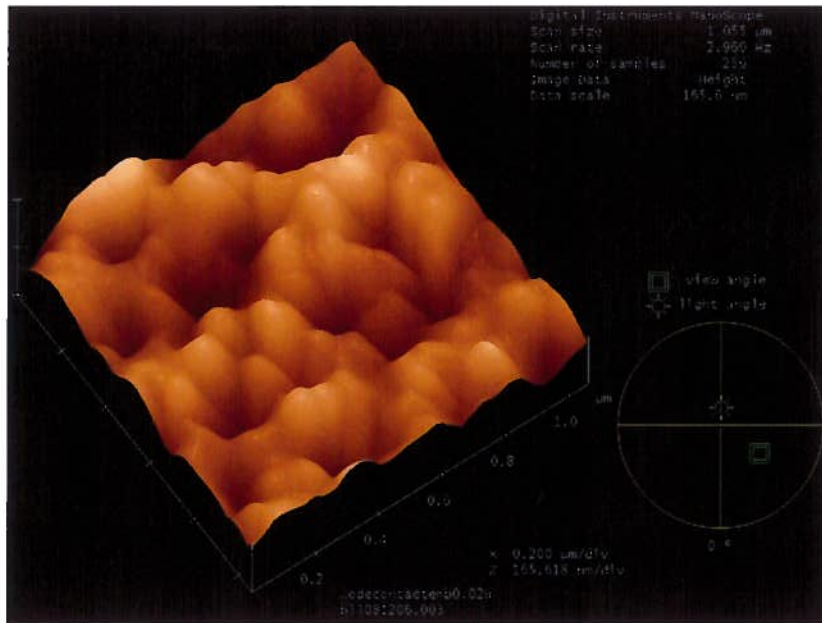


Figure 2: Image des pores d'une membrane céramique prise au microscope à force atomique (mode contact et air ambiant)(Djouder, 2007)

La figure 2 représente une image AFM en mode contact, en trois dimensions (3D) d'une membrane céramique utilisée pour la microfiltration. La surface scannée est de $1 \mu\text{m}^2$ sur $165,6\text{nm}$ de hauteur. Cette image nous montre que les pores de cette membrane ont un diamètre d'environ $0,2\mu\text{m}$. Il est aussi remarquable que cette membrane a une densité de pores importante.

1.1.1.3.2 L'ultrafiltration

L'ultrafiltration met a profil l'utilisation des membranes microporeuses dont le diamètre de pore sont compris entre 1 et 100 nm. Ces membranes laissent passer les petites molécules (eau, sels) mais retiennent les virus et les molécules organiques de masse molaire élevée (polymères, protéines, colloïdes) (Maurel, 1993). À cet effet, cette technique est utilisée pour l'élimination de macrosolutés qui se trouvent dans les effluents

ou dans les eaux usées domestiques ou industrielles. Une des premières applications commerciales de la membrane d'ultrafiltration a été le recyclage de la peinture dans les chaînes de fabrication d'automobiles. Elle a aussi été appliquée dans la récupération du lactosérum lors de la production fromagère, en permettant l'élimination d'une importante pollution tout en produisant une matière première entrant dans la fabrication de biscuits, assurant la rentabilité économique du procédé (Lutz, 2010). Actuellement, ses applications sont élargies aux domaines pharmaceutique, médical, électronique, papetière, textile et autres (Lutz, 2010).

1.1.1.3.3 La nanofiltration

La nanofiltration se situe entre l'osmose inverse et l'ultrafiltration. La membrane est de type poreux. Les mesures prises au microscope à force atomique indiquent que, la plupart des pores de la membrane de nanofiltration(NF) sont distribués entre 0,3 et 2 nm de diamètre (**Figure 3**) (Bandini et Bruni, 2010; Hilal et Johnson, 2010 et Djouder, 2007). La membrane de nanofiltration permet la séparation de composants ayant une taille en solution voisine de celle du nanomètre (Peeva et al.,2010). Les sels ionisés multivalents (calcium, magnésium, aluminium, sulfates...) et les molécules organiques non ionisées de masse molaire supérieure à 250 g/mol y sont fortement retenus (Berland , Juery , 2002). Les domaines d'application de ce type de la membrane ne cessent d'augmenter. Ainsi, elle est de plus en plus utilisée dans l'adoucissement des eaux, la désulfatation et la rétention des complexes de métaux lourds. Elle est également utilisée pour l'élimination des couleurs, de la matière organique naturelle et de quelques polluants organiques tels que les pesticides (Boussahel et al., 2002).

Membrane nanofiltration

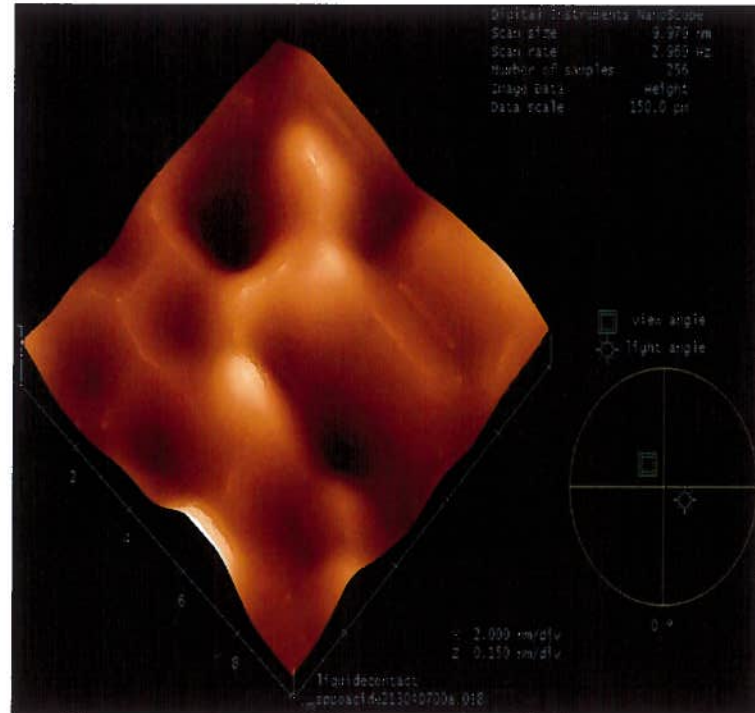


Figure 3: Image d'une membrane de nanofiltration Oxyde de polyphénile sulfoné (SPPO) au microscope à force atomique (Djouder, 2007)

La figure 1 montre une image prise en AFM d'une membrane de nanofiltration Oxyde de polyphénile sulfoné (SPPO). La taille moyenne des pores a été déterminée de 1 nm de diamètre, ce qui est typique pour ce type de membrane de nanofiltration

1.1.1.3.4 L'osmose inverse

L'osmose inverse est un procédé de séparation en phase liquide par perméation à travers des membranes, sous l'effet d'un gradient de pression représentant la force motrice. Le procédé est capable d'éliminer tous les colloïdes et les matières dissoutes à partir d'une solution aqueuse (Schrotter et al., 2010). Les membranes d'osmose inverse sont largement utilisées pour le traitement de l'eau saumâtre dans le but de production d'une eau ultra-pure et pour le dessalement de l'eau de mer en vue de produire de l'eau potable, devançant les procédés d'évaporation depuis les années 2000. Elles sont aussi

utilisées dans le domaine industriel et agricole en particulier dans la récupération des eaux usées et les boucles de recyclage (Kurihara et Tomioka, 2010).

1.1.2 Aperçu sur la compagnie Hayka Inc. et ses procédés membranaires

HAYKA qui signifie science en russe est une compagnie créée en 1988 par son président Rémi Lebrun, Ph. D, qui est également professeur à l'Université du Québec à Trois-Rivières (UQTR).

HAYKA Inc. est une compagnie 100% Canadienne. Sa mission est de traiter complètement les effluents industriels et municipaux, recycler l'eau et extraire les produits valorisables en partenariat avec des clients. Effectuer la conception, l'installation, la télésurveillance, l'amélioration et l'entretien des procédés synergétiques basés sur les systèmes membranaires est le mandat de HAYKA. Depuis sa création, HAYKA Inc. n'a cessé d'innover pour répondre aux besoins de l'industrie dans de nombreux domaines tels que : l'électronique, le textile, les pâtes et papier, l'agro-alimentaire, l'industrie pharmaceutique, la production d'eau potable, le traitement des eaux usées domestiques, les fluides spéciaux et les gaz.

Ce projet fût initié par le Dr. Remi Lebrun, il a pris toute son envergure lors de la collaboration avec le Professeur Michel Fournier de l'INRS. HAYKA Inc. a participé au projet en offrant les systèmes de filtration membranaire, l'analyse physico-chimique des eaux usées et des eaux traitées ainsi que les laboratoires d'essais et la logistique informatique et bibliographique.

1.1.3 Station d'épuration des eaux usées de Ville de Montréal

La Station reçoit la totalité des eaux usées du territoire de l'île de Montréal et de l'île Bizard en temps sec et pour la plupart des périodes de pluie jusqu'à l'atteinte du débit de 88 m³/s. En août 2007, ce débit maximal fût enregistré par la Station.

Le procédé de traitement de la station d'épuration des eaux usées de Montréal est de type physico-chimique (Purenne, 2007 ; Montgolfier et al. 2008).

Le tableau 2 donne la quantité en pourcentage des polluants enlevés par la station d'épuration des eaux usées durant l'année 2007. Le tableau précise également la variation des taux des polluants éliminés selon les saisons

Tableau 2: Taux d'enlèvements de polluants en 2007 (Purene, 2007)

Caractéristiques	Annuel	Printemps	Été	Automne	Hiver
MES	83%	83%	86%	82%	81%
PT	70%	72%	73%	71%	64%
DBNO5	35%	35%	48%	37%	29%
DCO	44%	44%	47%	47%	39%
Coliformes fécaux	68%	71%	66%	72%	-?
Huiles et graisses	77%	75%	80%	74%	79%

1.1.4 Unité du traitement des eaux souterraines de Ville Mercier

Pour connaître l'origine de cette contamination majeure, il faut retourner quarante ans en arrière. Les lagunes de Mercier furent polluées entre 1968 et 1972 par la société La Salle Oil Carriers (une ancienne carrière de gravier) avec des rejets d'huiles usées ainsi que par des résidus pétroliers. À l'époque, le gouvernement du Québec avait autorisé ces déversements dans les lagunes de Mercier. Il croyait que le sable pouvait absorber cette pollution. Or, ce n'est pas vrai du tout et la nappe phréatique fut contaminée, depuis des milliers de terrains ont été caractérisés et des centaines se sont avérés contaminés (Codina, 2007). En 1981, une étude de caractérisation des eaux souterraines fournit des données sur la zone contaminée. L'étude a montré l'existence d'une zone fortement polluée de deux kilomètres carrés et d'une zone de moindre contamination s'étendant sur près de trente kilomètres carrés. Comme la contamination risquait d'atteindre la source d'approvisionnement en eau souterraine de Sainte-Martine, le gouvernement autorisait, en 1982, la construction d'une conduite pour alimenter cette municipalité en eau potable (Bureau d'audiences publiques sur l'environnement, 1994). Le gouvernement a dû adopter un décret pour interdire de puiser l'eau souterraine dans le secteur. Malgré

l'importance des sommes injectées et les coûts récurrents liés au maintien du piège hydraulique (Beaudet, 1999).

En septembre 2006, la ministre du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs, Line Beauchamp, a émis un avis au propriétaire en vertu de l'article 115.1 de la Loi sur la qualité de l'environnement, l'enjoignant de mettre en place un nouveau système de confinement des sources de contamination des eaux souterraines dans le secteur des lagunes de Mercier. La ministre du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs investira plus de 1,5 million \$ pour assurer l'efficacité du système actuel de l'usine de traitement des eaux souterraines (UTES) (Communiqué de presse, 2007).

En avril 2009, la ministre du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs a annoncé le lancement de la procédure d'appel d'offres pour la modernisation de l'usine de traitement des eaux souterraines (UTES) du secteur des lagunes de Mercier. Les travaux sont évalués à plus de 1,5 M\$ (Communiqué de presse, 2009).

1.1.5 Site du Technoparc

Le site du Technoparc (centre de recherche technologique et scientifique), qui est situé au bord du fleuve St-Laurent entre les ponts Champlain et Victoria, contient des eaux souterraines toxiques. Depuis 1966, les eaux souterraines génèrent quotidiennement un débit estimé à 1000 m³/j par les pluies tombant sur le site du secteur du Parc d'Entreprises Saint-Charles de Montréal et se chargent en éléments toxiques par un phénomène de lixiviation d'importantes quantités de déchets de diverses natures enfouies sur ce site au 20^{ème} siècle (industriels, domestiques, matériaux de construction). L'amplitude, la localisation et la nature de la contamination sont aujourd'hui assez bien cernées sur une superficie de 75 hectares qui borde le St-Laurent entre les ponts Champlain et Victoria. De nombreuses études de caractérisation ont été effectuées sur une longue période de temps et ont démontré la présence de plusieurs contaminants à des concentrations variées. Les eaux souterraines contiennent des métaux, des substances organiques et inorganiques représentant principalement un risque écotoxicologique pour l'environnement et toxique pour l'homme. A cet effet, le Centre d'Excellence de Montréal en Réhabilitation de Sites (CEMRS) a lancé un appel d'offre public pour la réalisation d'essais de traitabilité en juillet 2006 (Lebrun et al., 2007).

Dans ce cadre (problématique liée au traitement d'eaux), la compagnie HAYKA Inc. participer au concours pour réaliser les travaux de détoxification au moyen des technologies membranaires et pour appliquer sa stratégie de gestion de l'eau (Lebrun et al., 2007).

1.2 L'évaluation de la toxicité

Les essais biologiques deviennent les outils d'analyse les plus utilisés pour évaluer le risque potentiel lié à la présence de produits chimiques (les pesticides, les produits de désinfection, les produits pharmaceutiques, les hormones...) dans l'eau (Hernando et al., 2006). Dans le cas des écosystèmes aquatiques, les effets de toxicité sont généralement évalués sur des bactéries, des producteurs primaires (algues), des consommateurs primaires (microcrustacés) et des consommateurs secondaires (poissons) (Gilbin, 2001). Les méthodes des essais biologiques utilisées pour évaluer la toxicité des eaux sont très nombreuses. Cependant, les méthodes utilisées par les laboratoires accrédités et les stations de traitement des eaux au Québec sont celles reconnues par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec et par l'Environnement Canada. Il s'agit alors, des tests standardisés qui doivent être parfaitement reproductibles quel que soit l'expérimentateur, ceci afin d'avoir une valeur légale.

Les méthodes d'analyse biologique reconnues et normalisées par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec sont :

1. Inhibition de la croissance avec l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*
2. Inhibition de la bioluminescence *Vibrio fischeri* (Microtox).
3. Inhibition de la reproduction avec *Daphnia magna*
4. Détermination de la toxicité létale CL50 48h *Daphnia magna*

Les méthodes d'essais biologiques reconnues par l'Environnement Canada sont

1. Essai de létalité aiguë sur la truite arc-en-ciel
2. Essai de létalité aiguë sur l'épinoche à trois épines *Gasterosteus aculeatus*
3. Essai de létalité aiguë sur *Daphnia magna*
4. Essai de reproduction et de survie sur le cladocère *Ceriodaphnia dubia*
5. Essai de croissance et de survie sur des larves de tête-de-boule
6. Essai de toxicité sur la bactérie luminescente *Vibrio fischeri*

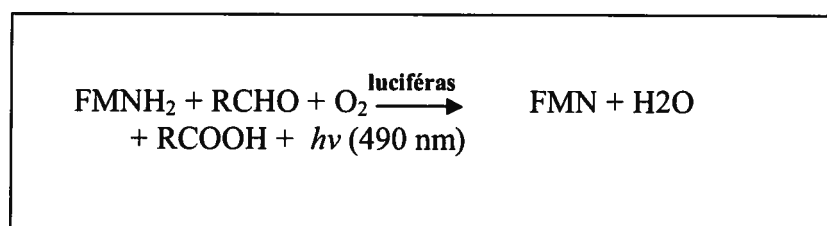
7. Essai d'inhibition de la croissance d'une algue d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata*
8. Essai de mesure de l'inhibition de la croissance de la plante macroscopique dulcicole *Lemna minor*
9. Essai sur la fécondation chez les échinides (oursins verts et oursins plats)

Dans notre projet nous avons utilisé trois espèces (bactérienne, végétale et animale) pour évaluer l'efficacité du traitement par un procédé membranaire. Pour le test écotoxicologique, nous avons choisi la bactérie *Vibrio fischeri* dite aussi *Photobacterium phosphoreum* comme bio-indicateur pour le test aiguë et les algues *Pseudokirchneriella subcapitata* pour les tests chroniques, tandis que pour les tests immunologiques nous avons choisi les truites mouchetées *Salvelinus fontinalis*.

1.2.1 La bactérie *Vibrio fischeri*

La bactérie *Vibrio fischeri* (**Figure 4**) est bioluminescente et hétérotrophe. C'est une bactérie à Gram négatif trouvée dans les eaux tempérées et subtropicales (Garrity et al., 2005). Elle vit dans les profondeurs en symbiose avec les poissons et les calmars. Elle fournit de la lumière tandis que les nutriments et l'oxygène sont fournis par l'hôte. L'utilisation des bactéries bioluminescentes comme bio-indicateur remonte aux années 1950 (Microbiology 2005; Scheerer et al, 2006).

La bioluminescence peut être facilement mesurée pour évaluer l'activité métabolique de la bactérie. La luminescence est liée à un ensemble de réactions métaboliques mettant en jeu plusieurs molécules, dont une flavine mononucléotide réduite (FMNH₂) qui sert de luciférine, un aldéhyde à longue chaîne (7-16 carbones) servant de cofacteur et de l'oxygène moléculaire. L'enzyme luciférase catalyse l'oxydation simultanée de FMNH₂ en FMN et de l'aldéhyde aliphatique en acide gras, en présence d'oxygène (Scheerer et al., 2006). Ces réactions sont expliquées par la formule suivante:



La lumière émise est de couleur bleu-vert et présente un maximum d'émission à 490 nm (Scheerer et al., 2006). Les molécules ayant une action sur les activités métaboliques sont toutes susceptibles d'entraîner une baisse de la luminescence des bactéries (Gilbin, 2001). L'utilisation de la bactérie *Vibrio fischeri* est considérée comme l'un des tests de toxicité le plus largement appliqué et qui est adapté aux normes officielles dans plusieurs pays. Or, la bioluminescence produite par la bactérie marine *Vibrio fischeri* est la base pour plusieurs bio-essais de toxicité qui ont été utilisés pour évaluer la toxicité des eaux usées, des sédiments, des sols et pour la surveillance de la qualité des eaux destinées à la production d'eau potable (Johnson, 2005). La bactérie *Vibrio fischeri* est utilisée pour la facilité du protocole, la reproductibilité des résultats obtenus et sa rapidité dans l'évaluation de la toxicité (Hernando et al., 2006; Hsieh et al., 2004).

La bactérie *Vibrio fischeri*

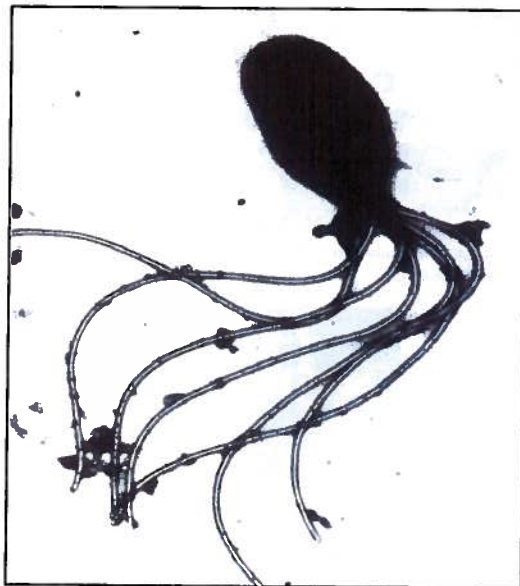


Figure 4: La bactérie *Vibrio fischeri* (Garrity et al., 2005)

Image d'une bactérie Vibrio fisheri prise par un microscope électronique au X 23000. La technique de préparation utilisée est une coloration à gram négatif. L'image montre la présence des touffes de flagelles polaires gainés.

1.2.2 Les algues *Pseudokirchneriella subcapitata*

Dans les années 1960, une inquiétude progressive sur l'eutrophisation des lacs d'eau douce en Amérique du Nord et en Europe a permis l'application et le développement des essais biologiques pour l'estimation de la croissance potentielle des algues et contrôler l'impact de la pollution sur les écosystème aquatique (Pavlic et al., 2005). *Pseudokirchneriella subcapitata* (**Figure 5**) (anciennement appelée *Selenastrum capricornutum* puis *Raphidocelis subcapitata*) est une algue unicellulaire autotrophe, elle se développe dans les eaux douces en présence de la lumière. Cette algue a un volume moyen de 40 à 60 μm^3 qui peut atteindre jusqu'à 60 à 70 μm^3 en phase exponentielle (Balaise et Paule, 2005). Les algues *Pseudokirchneriella subcapitata* sont des cellules eucaryotes contenant de la chlorophylle, sa position taxonomique est représentée par le **Tableau 3** (Maloney, 2007). Elle fait partie des cellules utilisées pour des tests de toxicité des échantillons liquides et solide dans le cas de lixiviat de déchets urbains et industriels (Férard et Ferrari, 2005). L'algue *Pseudokirchneriella subcapitata* a l'avantage d'être très sensible, rapide, reproductible et bien adaptée pour le criblage de grandes quantités d'échantillons (Lee et al., 2009; Källqvist et al., 2008). Elles ont également l'avantage d'être abondantes, ce qui donne un accès à de vastes populations. De plus, ces algues sont caractérisées par la rapidité de les cultiver à un taux de croissance exponentiel, la facilité de culture et l'utilisation des milieux de culture inorganiques simples (Koukal et al., 2007).

Tableau 3: Description de la taxonomie de *Pseudokirchneriella subcapitata*
(Maloney, 2007)

Royaume	Plantes
Division	<i>Chlorophycota</i> (algues vertes)
Classe	<i>Chlorophyceae</i>
Ordre	<i>Chlorococcales</i>
Famille	<i>Oocystaceae</i>
Genre	<i>Kirchneriella</i>
Espèce	<i>Subcapitata</i>

Les algues *Pseudokirchneriella subcapitata*

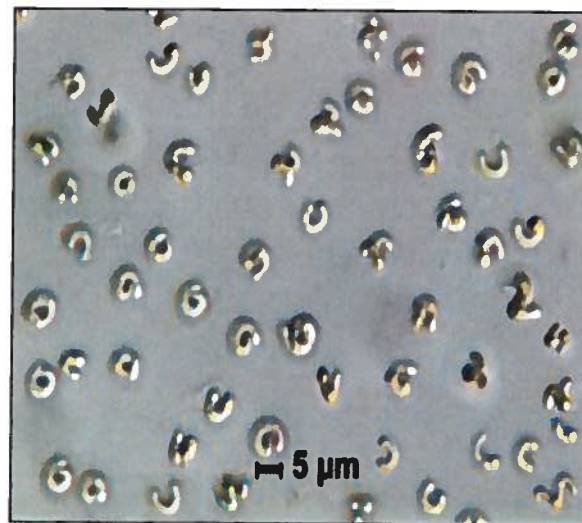


Figure 5: Observation des algues *Pseudokirchneriella subcapitata* au microscope optique (X 400) (Yocka et al., 2009)

L'algue P. subcapitata est une algue verte unicellulaire en forme de demi-lune mesure en moyenne de 5 à 6 μm. De la classe des chlorophycée, elle est capable de se diviser plus de 3 fois par jour (Santiago et al., 2002).

1.2.3 Les truites *Salvelinus fontinalis*

La réponse immunitaire des poissons est sensible à la contamination de l'environnement. À cet effet, les poissons sont utilisés comme des indicateurs biologiques pour déterminer la santé des écosystèmes aquatiques (Salo et al., 2007). Plusieurs études considèrent les truites de la famille *Salmonidae* comme des espèces sentinelles pour les écosystèmes aquatiques car leurs systèmes physiologiques sont plus sensibles aux variations des niveaux trophiques de l'écosystème aquatique (Giesy et al., 2002; Lien et al., 2001) Parmi cette famille, nous retrouvons la truite *Salvelinus fontinalis* dite aussi l'omble de fontaine ou truite mouchetée (**Figure 6**). Elle est originaire de l'est de l'Amérique du Nord et de la région atlantique. Elle se retrouve un peu partout dans les provinces de l'Atlantique y compris les îles au large de la côte ainsi que dans les lacs, les étangs et les cours d'eaux froides et claires car elle est moins tolérante aux eaux plus chaudes. La truite *Salvelinus fontinalis* est l'espèce la plus étudiée pour sa sensibilité aux métaux (Hansen et al., 2002).

La truite *Salvelinus fontinalis*



Figure 6: La truite mouchetée (*Salvelinus fontinalis* ou omble de fontaine)
(Roberts, 2000)

Le corps de la truite mouchetée est allongé avec une longueur moyenne de 38.1-50.8 cm. Sa coloration est très distincte. Le dos de l'omble de fontaine a une coloration vert olive foncé à brun foncé, parfois presque noir. Le côté ventral a une coloration blanc argenté, la nageoire dorsale a des lignes noires ondulées, la nageoire caudale a des lignes noires et les nageoires pelviennes et pectorales ont des bords blancs suivies par une coloration rouge noir. Les mâles adultes ont une grande bouche avec un crochet sur le devant de la mâchoire inférieure (Roberts, J. 2000). Ces truites mouchetées ont 3 à 4 épines dorsales, 3 à 4 épines anales et 58 à 62 vertèbres (Keith and Allardi 2001).

Les connaissances en immunologie chez les poissons ont connu une évolution considérable ces deux dernières décennies. Plusieurs études faites sur les truites mouchetées ont permis de constater que ces dernières possèdent un système immunitaire ayant deux types de cellules qui s'expriment de deux façons. Une immunité non spécifique ou immunité naturelle qui est un mécanisme de défense inné et qui rend l'hôte résistant à l'infection par l'action immédiate de cellules ou protéines non spécifiques tels que les macrophages et les interférons. L'immunité acquise et spécifique tel que les lymphocytes (B) s'exprime, par la réponse humorale caractérisée par la production d'immunoglobulines et les lymphocytes (T) qui s'exprime par la réponse cellulaire (Corbeil, 1991).

1.3 Objectif du projet

L'objectif de ce projet consiste à effectuer le traitement des différentes matrices des effluents de la station d'épuration de la Ville de Montréal, les eaux sous-terraines de la Ville de Mercier et du Technoparc de la Ville de Montréal, toutes hautement toxiques, par la membrane de nanofiltration et évaluer l'efficacité de la filtration membranaire par des tests physicochimiques, des tests de toxicité aiguë, des tests de toxicité chronique et des tests immunologiques. À cet effet, les eaux contaminées ont, d'abord, été filtrées par des procédés de NF conçus et développés par la compagnie Hayka Inc. située à Montréal. Par la suite, ces eaux filtrées ont été soumises à des tests de toxicité aiguë avec la bactérie *Vibrio fischeri* ainsi qu'à des tests de toxicité chronique en utilisant les algues unicellulaires *Pseudokirchneriella subcapitata*. Enfin, des tests immunologiques ont été effectués afin de déterminer la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules immunitaires de truites mouchetées exposées aux eaux non filtrées et aux eaux filtrées par les membranes de NF.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Ce chapitre est composé de deux parties. La première partie est consacrée à la filtration membranaire et la deuxième traite des différents tests utilisés pour évaluer la toxicité des effluents traités.

2.1 La filtration membranaire

Les effluents utilisés dans notre projet proviennent de trois sites différents : La station d'épuration de la Ville de Montréal, l'unité de traitement des eaux souterraines de la Ville de Mercier et Technoparc de la Ville de Montréal. Les effluents des deux premiers sites sont déjà traités avec des procédés que nous allons décrire dans ce chapitre.

Les eaux souterraines de Technoparc, quant à elles, sont traitées par les membranes de filtration de la compagnie HAYKA Inc.

2.1.1 Station d'épuration des eaux usées de Montréal

Le procédé de traitement de la station d'épuration des eaux usées de Montréal est de type physico-chimique. La **Figure 7** illustre le procédé de traitement des eaux usées:

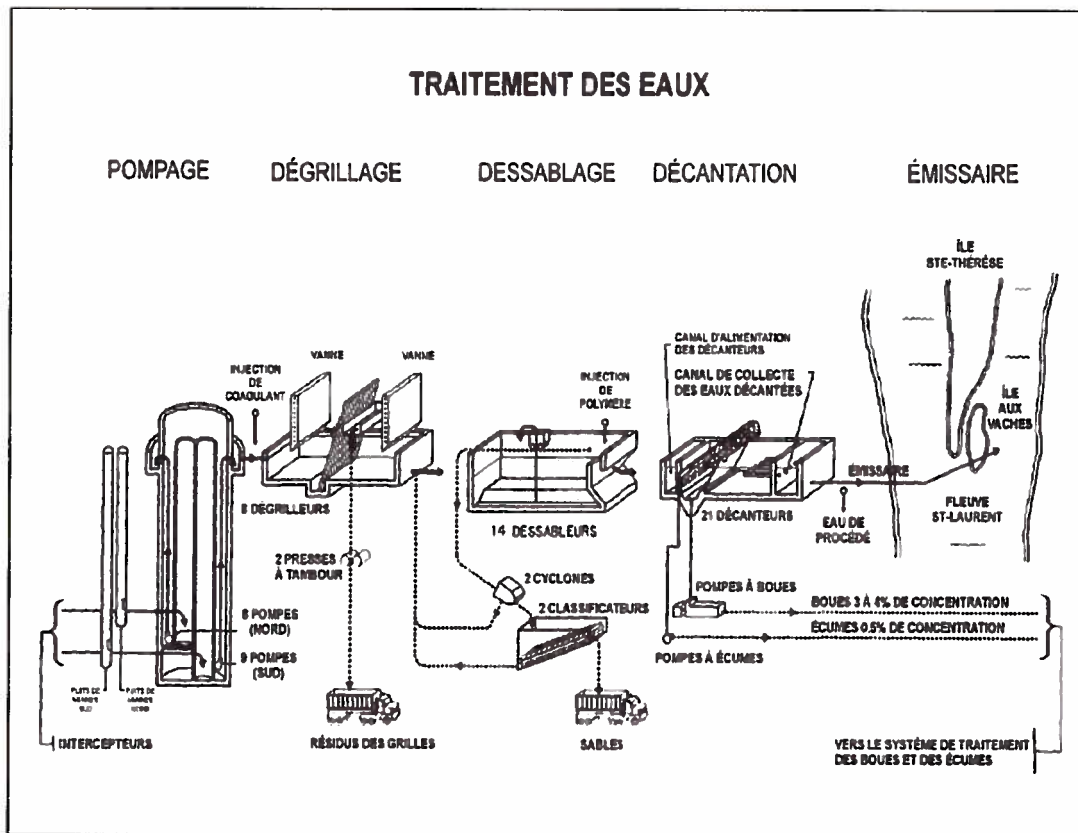


Figure 7: Procédé de traitement des eaux usées (Purenne, 2007)

La figure montre les différentes étapes de traitement que la station d'épuration des eaux usée de la Ville de Montréal utilise avant de jeter les effluents dans la rivière. Tous les effluents municipaux et industriels passent d'abord par le dégrillage puis par le dessablage. La station complète le processus de traitement par l'opération de décantation avant d'acheminer l'effluent obtenu dans le fleuve St- Laurent.

Le pompage

Les eaux usées sont acheminées à la Station par les 2 intercepteurs nord, à 27 mètres de profondeur, et sud-est, à 43 mètres de profondeur. Ils sont relevés au niveau du sol à la station de pompage (Purenne, 2007).

Dégrillage

Grace à huit dégrilleurs de 3,66m de large chacun, la station d'épuration élimine tous les résidus de 25 mm et plus. Ces derniers sont ensuite déshydratés à 90% avec des presses à

tambours rotatifs avant d'être compactés à 60%. Enfin, les déchets ainsi transformés sont acheminés par camions vers le site d'enfouissement sanitaire (Purene, 2007).

Dessablage

Le dessablage est réalisé à l'aide de 14 dessableurs aérés, ayant chacun 7,6 mètres de largeur sur 67 mètres de longueur. Cette opération permet d'éliminer toutes les particules lourdes dont la densité relative est de 2.5 et dont la taille effective est de 150µm. Les sables sont concentrés et lavés dans des cyclones et des classificateurs pour finalement être transportés avec les cendres vers l'ancienne carrière Demix, lieu d'enfouissement appartenant à la Ville de Montréal (Purene, 2007).

Traitement chimique

La station d'épuration de Montréal introduit dans le processus deux éléments chimiques, le coagulant (chlorure ferrique ou aluminium) et le polymère anionique. Le coagulant est dosé dans les canaux d'amenée aux grilles alors que le polymère anionique est introduit à la sortie des dessableurs. Ce traitement chimique permet la réduction des phosphates et des matières en suspension dans les eaux usées. Ces produits chimiques sont injectés respectivement de façon proportionnelle à la charge de phosphore total et au débit d'eau brute. La réaction qui se produit entre le phosphore et le coagulant produit une précipitation de particules appelées floc. Les flocs et les autres matières se déposant au fond des décanteurs forment les boues. Les matières flottant en surface des décanteurs sont les écumes. Ces boues et écumes sont pompées vers le bâtiment des boues pour y être traitées (Purene, 2007).

Décantation

Les eaux dessablées et floclées sont dirigées vers 21 décanteurs où s'effectuent la décantation et l'écumage. Les flocs chimiques et les autres matières en suspension dans les eaux usées tombent au fond des décanteurs. Les huiles, graisses et autres matières flottantes remontent à la surface. L'eau traitée sort des décanteurs par des ouvertures dans des conduites d'évacuation submergées : les collecteurs d'effluent. L'eau traitée est ensuite acheminée au fleuve Saint-Laurent via les émissaires jumelés.

Le Tableau 2 résume les taux d'enlèvements de certains polluants des eaux usées par le traitement physico-chimique (Purenne, 2007).

2.1.2 Unité du traitement des eaux souterraines de Ville Mercie

Les étapes de traitement des eaux souterraines sont illustrées dans le schéma de la **Figure 8**

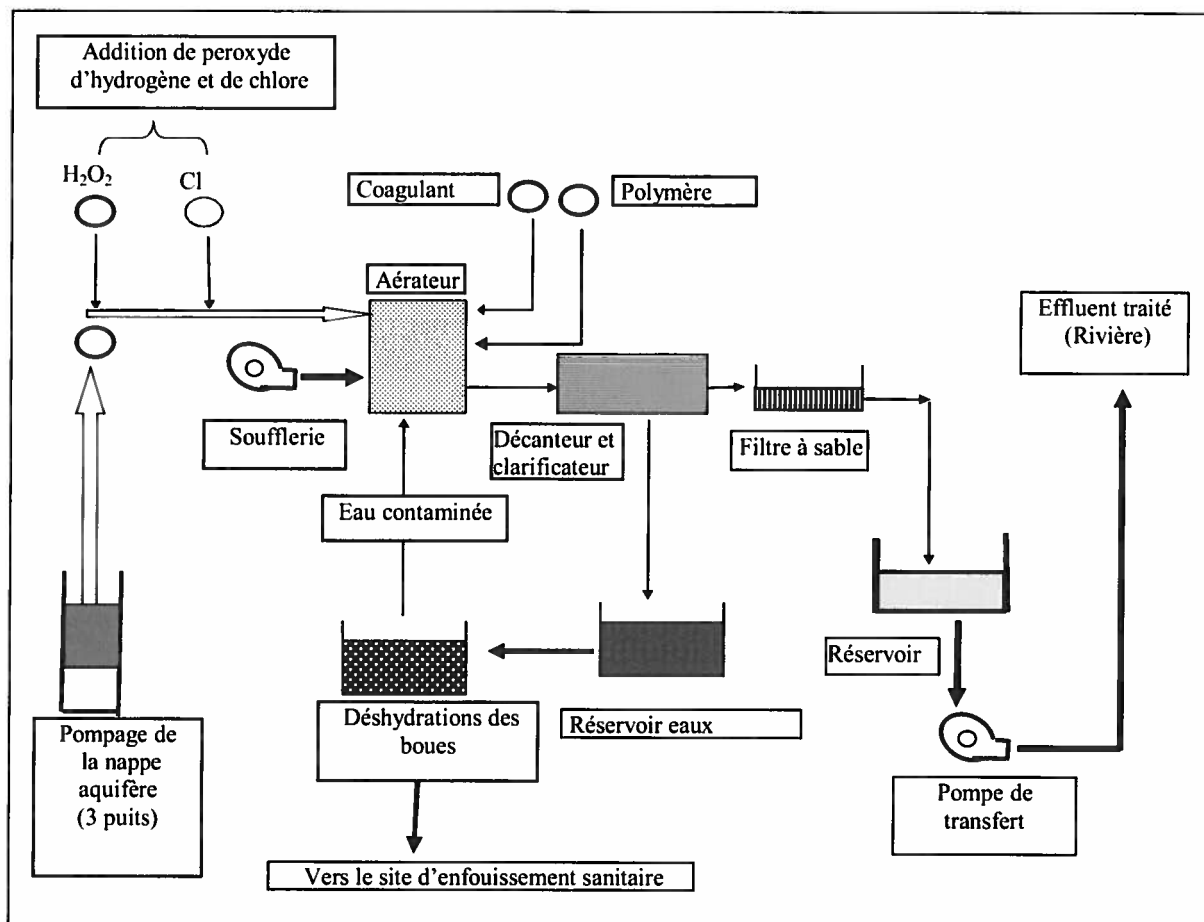


Figure 8: Diagramme du procédé de l'UTES de la Ville de Mercier

Les eaux souterraines des trois puits sont pompées et traitées par l'ajout de peroxyde d'hydrogène, de chlore, de coagulant (fer) et de polymère pour enlever les bactéries, les hydrocarbures et les métaux lourds. Par la suite, les eaux obtenues sont décantées et

filtrées par un filtre à sable. A la fin du processus, les effluents traités seront acheminés dans la rivière.

2.2.3 Filtration par les membranes de HAYKA

Les effluents de la station d'épuration des eaux usées de Montréal et de l'unité de traitement des eaux souterraines de la Ville de Mercier sont filtrés par le système de filtration membranaire comme indiqué dans la **Figure 9**.

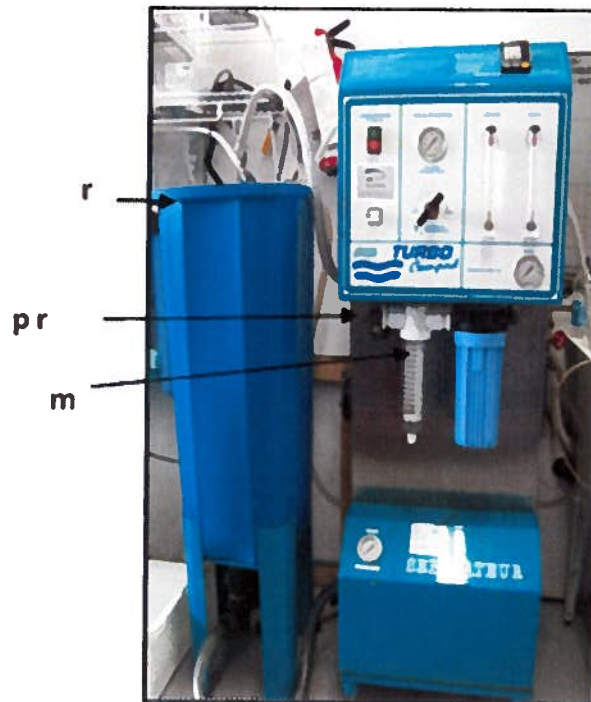


Figure 9: Système de filtration fourni par HAYKA Inc. (Lebrun et al., 2007)

(r) réservoir, (pr) pré-filtre, (m) microfiltration, (n) nano filtration, (p) pompe

Le système de filtration (**Figure 9**) est composé d'un filtre pour éliminer tout ce qui est sable et grosse particule, d'un module de microfiltration ($0,2\mu\text{m}$) pour tout ce qui est bactérie et enfin, de deux modules de nanofiltration qui diffèrent (NF_1 , NF_2) par les caractéristiques des membranes (nature et structure). À la fin de la filtration deux perméats différents sont obtenus en parallèle (ETNF_1 , ETNF_2).

2.2.4 Site du Technoparc

Les eaux souterraines du Technoparc sont filtrées par un système membranaire conçu par la compagnie HAYKA Inc en 2006. Ce système est constitué de deux bancs d'essais comme le montre la **Figure 10**. La procédure de filtration membranaire est illustrée par la **Figure 11**.

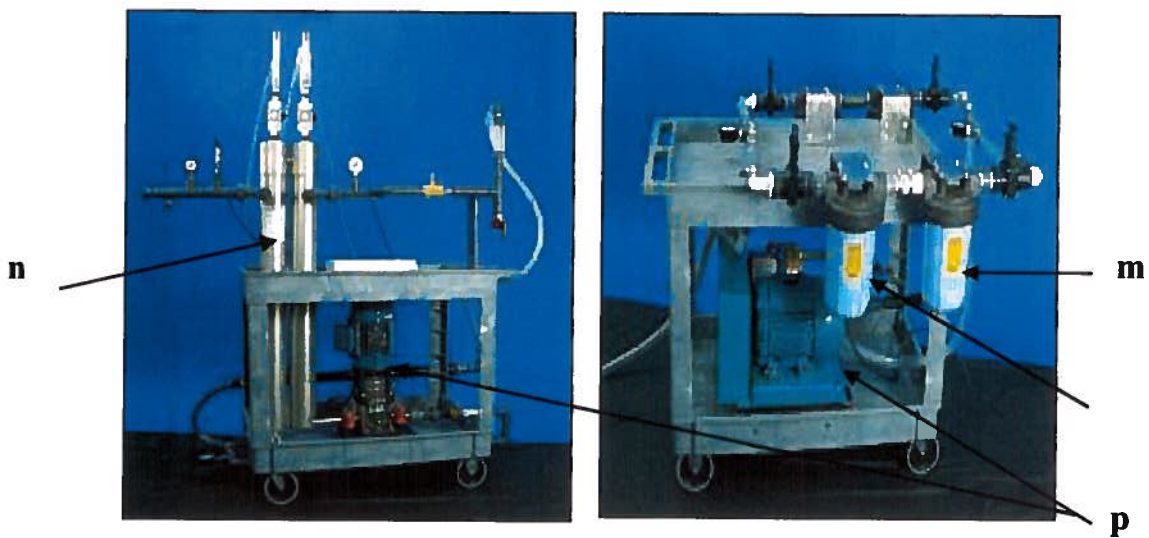


Figure 10: Bancs d'essais conçus par Hayka

(A) système filtration, (B) bancs d'essais conçu par Hayka
(r) réservoir, (p r) pré filtre, (m) microfiltration, (n) nano filtration, (p) pompe

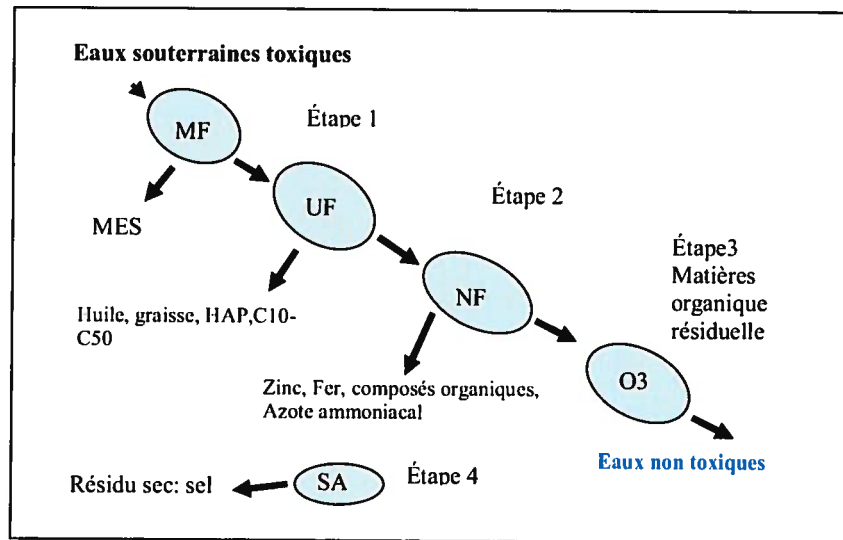


Figure 11: Procédure d'essais par procédés membranaires
(Lebrun et al., 2007)

MF : microfiltration, UF : ultrafiltration, NF : nano filtration, O3 : ozonation
SA : Séchage par atomisation, MES : matière en suspension.

La filtration des eaux souterraines toxiques passe par trois étapes. Durant le processus de filtration les eaux passent, dans un premier temps, à travers des membranes de microfiltration pour enlever les matières en suspension et stériliser le microfiltrat, puis ce dernier passe à travers des membranes d'ultrafiltration pour éliminer les huiles, les graisses ainsi que les hydrocarbures. L'ultrafiltrat obtenue est ensuite traité par une nanofiltration de type I à fin de retenir les composés organiques et les ions divalents (comme le fer, le zinc, le strontium) puis l'azote ammoniacal est en partie séparée par une nanofiltration de type II. Enfin, l'application d'un procédé d'oxydation avancée a permis d'éliminer toute trace d'azote ammoniacal (identifié par le CEMRS comme le principal agent de toxicité et d'écotoxicité) (Lebrun et al. 2007). Par ailleurs, le concentrat obtenu à la fin du processus de traitement a permis d'effectuer des précipitations sélectives puis, soumis à un séchage par atomisation, il fût transformé en un résidu sec, non toxique.

2.2 Tests physicochimiques

Pour avoir une idée sur la quantité de contaminants contenus dans les effluents, nous avons procédé à des tests physicochimiques avant d'effectuer les tests écotoxicologiques et immunologiques. Les tests ont été faits pour les effluents E_IB, E_{II}B, E_ITNF₁, E_ITNF₂, E_{II}TNF₁ et E_{II}TNF₂ en même temps et dans un laps de temps court, afin de minimiser les interférences qui pourraient être causées par une variation des conditions ambiantes (température, humidité, etc.). Nous avons utilisé le pH-mètre (OAKTON, Vernon Hills, USA) et le conductimètre (OAKTON, Vernon Hills, USA) pour déterminer le pH et la conductivité (Λ) des eaux. Les éléments chimiques sont déterminés par un test colorimétrique utilisant un microprocesseur portable (Orbeco-Hellige, Montréal, Québec, Canada) et des réactifs chimiques.

Pour le projet du Technoparc (réalisé sous la supervision du CEMRS et du CEAEQ), les analyses physicochimiques ont été faites en 2006-2007 par le laboratoire Bodycote. Les méthodes utilisées par ce laboratoire sont accrédités par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec.

2.3 Test de toxicité aiguë avec les bactéries *V. fischeri*

La méthode d'essai biologique, essai de toxicité sur la bactérie luminescente utilisée dans ce travail découle de deux protocoles d'Environnement Canada (le rapport SPE 1/RM/24, 1992 et le rapport version 1996).

2.3.1 Préparation de l'échantillon

L'échantillon liquide été prélevé dans un contenant (polyéthylène, polypropylène) rempli à pleine capacité. Un volume de 10 mL est suffisant pour effectuer les essais. Dès le prélèvement, l'échantillon a été conservé à une température de 4 °C. Le délai maximal de conservation entre le prélèvement et l'analyse est de 96 heures. Ce délai peut toutefois varier selon la nature de l'échantillon.

2.3.2 Ajustement de la salinité

La salinité de l'échantillon est ajustée à 2% de NaCl selon la procédure suivante. Un poids de 0,2 g de NaCl est transféré dans un tube de culture (20 x 150 mm) préalablement identifié avec le numéro de l'échantillon, la date et les initiales de l'analyste. Par la suite un volume de 10 mL de l'échantillon à tester y est ajouté.

2.3.3 Préparation du toxique de référence

Afin d'obtenir une concentration initiale de 97,8 mg/L pour la solution mère, une quantité de 0,4397 g de sulfate de zinc (Sigma Aldrich) est transvidée dans un ballon jaugé (100 mL) contenant environ 50 mL d'eau pure (Milli-Q) qui est complété jusqu'à la ligne de jauge avec de l'eau purifiée (Milli-Q). La solution est conservée à une température de 4 °C. Pour préparer une solution de travail à une concentration de 10 mg/L, un volume de 10.2 mL de la solution mère est transféré dans un ballon jaugé (de 100 mL) contenant environ 50 mL d'eau purifiée qui est ensuite complété jusqu'à la ligne de jauge avec la même eau.

2.3.4 Préparation des dilutions

Avant le test, les eaux brutes sont passées sur un filtre de 0,45 µm (Fisher Brand, Ottawa, Ontario, Canada), tandis que les eaux filtrées sont passées sur un filtre de 0,2 µm (Fisher Brand, Ottawa, Ontario, Canada). Nos préparations sont faites dans des tubes à essais en verre. Les échantillons sont dilués par un facteur de 2 pour quatre concentrations (100 %v/v ; 50 %v/v ; 25 %v/v ; 12,5 %v/v ; 6,25 %v/v), par la suite ils sont incubés à une température de 15 °C pendant 15 min.

Dans un bain réfrigéré (Scientific. New Brunswick, Canada) à 15 °C, des cryovials (BioScience, Mississauga, Toronto, Canada) contenant 500 µL du diluant (Polycontrols, Brossard, Québec, Canada) sont mises pendant 5 min.

2.3.5 Préparation du réactif bactérien lyophilisé

Un volume de 1,0 mL de la solution de reconstitution (Polycontrols. SDI - Brossard, Québec, Canada) est transféré dans une cuvette d'incubation, il est ainsi

stabilisé à la température de 4 °C pendant 5 min. Par la suite, cette solution est transférée dans la bouteille de réactif bactérien (Polycontrols, Brossard, Québec, Canada). Le mélange du réactif bactérien reconstitué est versé rapidement dans la cuvette d'incubation à une température de 4 °C. Le réactif est homogénéisé et stabilisé durant 15 min.

Un volume 10 µL de la suspension est transféré dans les cryovials préalablement préparées. Ces dernières ont été laissées dans le bain réfrigéré à une température de 15 °C pendant 15 minutes. À 15 minutes, une lecture initiale (I_0) est effectuée avec un luminomètre (Modulus. Turner bioSystems, Sunnyvale, Californie, USA). Après la lecture un volume de 500 µL de l'échantillon est transféré immédiatement dans des cryovials. Par la suite ils sont incubés à une température de 15 °C pour une période de 15 mn. Une deuxième lecture (I_{15}) est effectuée par un luminomètre.

2.3.6 Mesures et calculs

La luminescence des bactéries est mesurée par un luminomètre. A la fin du test une série de calculs est effectuée pour déterminer le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne.

Calcul du rapport des témoins (R_t)

$$R_t = I_t(T) / I_0(T)$$

R_t : activité des témoins après le temps t.

$I_0(T)$: valeur initiale au temps t=0 mn de la bioluminescence du témoin

$I_t(T)$: valeur au temps t=15 mn de la bioluminescence du témoin

Expression de la bioluminescence

La formule suivante permet de corriger les variations de bioluminescence pour chaque concentration testée et d'exprimer en gamma (γ) la réaction d'inhibition.

La valeur gamma correspond au ratio entre la lumière perdue et celle restante, pour l'un des réplicas d'une concentration donnée au temps t

$$\gamma = (\text{lumière perdue}) / (\text{lumière restante})$$

$$\gamma = ((R_t \cdot I_0) - I_{15}) / I_{15} = (R_t \cdot I_0 / I_{15}) - 1$$

I_0 : valeur initiale au temps t=0 mn de la bioluminescence de l'échantillon

I_t : valeur au temps t=15 mn de la bioluminescence de l'échantillon

Détermination des concentrations inhibitrices

Les valeurs gamma obtenues permettent de déterminer les concentrations inhibitrices à partir d'une courbe de régression. La conversion des valeurs de gamma en pourcentage d'inhibition (I) est obtenue par la relation suivante :

$$I(\%) = ((T - C) / T) \cdot 100$$

$$I = \frac{(T - C)}{T} \text{ exprimé en \%}$$

T : densité cellulaire dans le témoin

C : densité cellulaire dans l'échantillon

Une valeur γ de 1 correspond à une perte de bioluminescence de moitié (CI_{50}).

2.4 Test de toxicité chronique avec les algues *P. subcapitata*

La préparation du milieu de cultures gélosées découle du protocole du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, (numéro de la méthode MA. 500 – P.sub 1.0).

2.4.1 Milieu pour culture gélosée

Le milieu utilisé pour le repiquage sur gélose est un milieu Bold Basal.

Tableau 4: Solutions concentrées d'éléments nutritifs pour le maintien des cultures gélosées

Solutions éléments nutritifs	Composés	Quantité préparée dans l'eau distillée
1	KH_2PO_4	8,75 g/500 mL
2	$\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1,25 g/500 mL
3	$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	3,75 g/500 mL
4	NaNO_3	12,5 g/500 mL
5	K_2HPO_4	3,75 g/500 mL
6	NaCl	1,25 g/500 mL
7	EDTA + KOH	10 et 6,2 g/1000L
8	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{SO}_4$	4,98 g/1000L 1 mL/1000L
9	Métaux traces	Voir tableau 4
10	H_3BO_3	5,75g/500 mL

Tableau 5: Solutions concentrées d'éléments traces pour le maintien des cultures gélosées

Produits	Composés	Quantité préparée dans l'eau distillée en g/L
1	$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	5,530
2	H_3BO_3	3,800
3	$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	2,340
4	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,160
5	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,635
6	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,073
7	$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,016

Pour chaque solution le pH est ajusté à 6,8 avec du NaOH ou du HCl. Dans un litre d'eau pure (Milli-Q), 10 mL de chaque solution éléments nutritives n° 1 jusqu'à n° 6 ; 1 mL de chaque solution n°7 jusqu'à n°9 et 0,7 ml de la solution n°10 sont ajoutés. Ensuite 15g/L de l'agar (Bacto, USA) sont ajoutés au milieu de culture reconstitué puis il est chauffé sur une plaque chauffante jusqu'à dissolution complète. Par la suite, un volume de 8 ml du milieu avec agar est transféré dans des tubes en verre de 15 mL chacun. Les géloses sont autoclavées pendant 15 mn à une température de 121 °C et à une pression de 1,06-1,20 kg/cm². À la fin, les tubes à essai sont penchés de façon à obtenir des géloses inclinées. Les géloses sont conservées à 4 °C pour une période maximale de 6 semaines.

2.4.2 Milieu de culture liquide

La préparation des milieux de cultures liquide et le protocole d'analyse découlent du protocole d'Environnement Canada (Méthode d'essai biologique: Essai d'inhibition de la croissance d'une algue d'eau douce, SPE 1/RM/25, 2007).

Cinq solutions mères d'éléments nutritifs sont préparées à partir des produits chimiques (Tableau 6).

Tableau 6: Solutions d'éléments nutritifs pour le milieu de croissance des cultures mères d'algues.

Solution d'éléments nutritifs	Composés	Quantité dissoute en mg dans 500 mL d'eau distillée
1	NaNO ₃	12 750,000
2	MgCl ₂ •6 H ₂ O CaCl ₂ •2 H ₂ O H ₃ BO ₃ MnCl ₂ •4 H ₂ O ZnCl ₂ CoCl ₂ •6 H ₂ O CuCl ₂ •2 H ₂ O Na ₂ MoO ₄ •2 H ₂ O FeCl ₃ •6 H ₂ O Na ₂ EDTA•2 H ₂ O	5000,000 2210,000 92,760 207,810 1,640 <i>a</i> 0,714 <i>b</i> 0,006 <i>c</i> 3,630 <i>d</i> 80,000 150,000
3	MgSO ₄ •7 H ₂ O	7 350,000
4	K ₂ HPO ₄	0,522
5	NaHCO ₃	7 500,000

a : dissoudre 164 mg de ZnCl₂ dans 100 mL d'eau pure (Milli-Q). Ajouter 1 ml de cette solution à la solution n° 2.

b : dissoudre 71,4 mg de CoCl₂•6 H₂O dans 100 mL d'eau pure (Milli-Q). Ajouter 1 mL de cette solution à la solution n° 2.

c : dissoudre 60,0 mg de CuCl₂•2 H₂O dans 1 000 mL d'eau pure (Milli-Q). Prendre 1 mL de cette solution et diluer dans 10 mL d'eau pure (Milli-Q). Ajouter 1 mL de cette seconde solution à la solution no 2.

d : dissoudre 36,3 mg de Na₂MoO₄•2 H₂O dans 10 mL d'eau pure (Milli-Q). Ajouter 1 mL de cette solution à la solution no 2.

Un volume de 1 ml de chaque solution mère est ajouté dans 900 ml d'eau pure (Milli-Q), puis le volume est jaugé jusqu'à 1000 mL avec la même eau. Le pH du milieu final est ajusté à $7,5 \pm 0,1$ avec du NaOH ou du HCl à 1N. Ensuite, le milieu de croissance est stérilisé par une filtration de 0,2 µm (SterivexTM- GP, Massachusetts, USA). A la fin, ce milieu est conservé à 4°C dans l'obscurité (valide jusqu'à six mois).

Les concentrations finales de nutriments dans le milieu de croissance liquide des cultures mères d'algues sont données au **Tableau 7**.

Tableau 7: Concentrations finales de nutriments dans le milieu de croissance liquide des cultures mères d'algues

Macronutriment	Concentration (mg/L)	Éléments	Concentration (mg/L)
NaNO ₃	25,50	N	4,200
MgCl ₂ •6 H ₂ O	10,00	Mg	2,650
CaCl ₂ •2 H ₂ O	4,42	Ca	1,200
MgSO ₄ •7 H ₂ O	14,70	S	1,910
K ₂ HPO ₄	1,04	P	0,186
		K	0,469
NaHCO ₃	15,00	Na	11,000
		C	2,140

Micronutriment	Concentration (µg/L)	Éléments	Concentration (µg/L)
H ₃ BO ₃	185,520	B	32,440
MnCl ₂ •4 H ₂ O	415,620	Mn	115,380
ZnCl ₂	3,280	Zn	1,570
CoCl ₂ •6 H ₂ O	1,430	Co	0,350
CuCl ₂ •2 H ₂ O	0,012	Cu	0,004
Na ₂ MoO ₄ •2 H ₂ O	7,260	Mo	2,880
FeCl ₃ •6 H ₂ O	160,000	Fe	33,100
Na ₂ EDTA•2 H ₂ O	300,000	-	-

2.4.3 Méthode de culture

Une culture mère concentrée est initiée par le transfert d'un volume de 1 mL d'une culture liquide de départ (CEAEQ, 0905R2D94), dans un Erlenmeyer de 250 mL contenant 100 mL du milieu de culture. Cette culture est incubée à 24 °C ± 2 °C sous un éclairage continu d'une intensité de 4300 lux ± 10 %, pendant sept à quatorze jours jusqu'à l'atteinte de la phase exponentielle de croissance voire (Figure 16).

Il est recommandé de partir une nouvelle culture liquide au moins chaque deux semaine. La première culture fille en phase exponentielle est repiquée sur gélose dans le but de maintenir la pureté des cultures en initiant de nouveau des cultures mères liquides à partir de colonies isolées sur la gélose.

Une observation microscopique est effectuée sur cette première culture fille pour s'assurer qu'elle n'est pas contaminée par des bactéries. Une agitation continue assure une disponibilité adéquate en CO₂ et une bonne homogénéité des organismes dans le milieu. La culture sur gélose est conservée au réfrigérateur à 4 °C et à l'obscurité pour une période maximale de quatre mois.

2.4.4 Protocole d'analyse

2.4.4.1 Préparation du milieu d'enrichissement

Pour chacune des solutions mères nutritives du **Tableau 6** un volume de 13,75 mL est mis dans un ballon jaugé contenant un volume de 800 mL d'eau pure (Milli-Q), puis le milieu est jaugé à 1000 mL avec la même eau. Le pH du milieu final est ajusté à $7,5 \pm 0,1$ avec du NaOH ou du HCl à 1N. A la fin, le milieu est stérilisé par une filtration de 0,2µm et conservé à 4°C dans l'obscurité (valable jusqu'au six mois).

2.4.4.2 Préparation des solutions d'essai

L'échantillon a été prélevé dans un contenant (polypropylène ou autre) neuf ou ayant subi un lavage approprié. Le contenant a été préalablement rincé avec l'échantillon et rempli au maximum. Pendant le transport, les échantillons sont conservés dans une glacière à l'obscurité. L'échantillon est acheminé au laboratoire dans le plus court délai possible et conservé à une température de 4 °C. Le délai maximal de conservation entre le prélèvement et l'analyse est de 3 jours.

Avant le test, les eaux brutes sont passées sur un filtre de 0,45 µm, tandis que les eaux filtrées sont passées sur un filtre de 0,2µm. Le pH de tout échantillon est mesuré avant d'utiliser ce dernier pour préparer les solutions d'essai. Les échantillons sont dilués par le facteur 2 pour quatre concentrations (100 ; 50 ; 25 ; 12.5 ; 6.25...).

Dans une microplaque de 96 puits à fond en U (Sarstedt, Californie, USA), un volume de 220µL d'eau pure (Milli-Q) est distribué dans chacun des 64 puits périphériques par une pipette multicanaux. Ensuite un volume de 200µL d'eau pure (Milli-Q), est distribué dans chacun des puits de la rangée F3, E3, D3 et C3 jusqu'à C10 (voir T comme témoin sur la **Figure 12**), ces derniers sont traités comme des témoins.

Le même volume des solutions diluées de l'échantillon (100 %v/v ; 50 %v/v ; 25 %v/v ; 12.5 %v/v ; 6.25 %v/v...) est ajouté dans les puits appropriés commençant par la plus faible concentration (C1) vers la plus forte (C7). La Figure 4 illustre parfaitement la configuration de la microplaque.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
B	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
C	E	E	T	T	T	T	T	T	T	T	E	E
D	E	E	T	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	E	E
E	E	E	T	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	E	E
F	E	E	T	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	E	E
G	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
H	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E

Figure 12: Configuration de la microplaque lors d'un essai

La figure ci-dessus représente une plaque de 96 puits à fond U. Les puits colorés en vert sont des témoins contenant 200µl d'eau pure. Les puits blancs contiennent chacun 200µl des différentes dilutions de l'échantillon (C1, C2,...C7). Les puits périphériques colorés en bleu contiennent 220µl d'eau pure utilisée pour empêcher l'interférence de la lumière.

2.4.4.3 Préparation de l'inoculum algal

La préparation de l'inoculum algal se fait 2 à 3 heures avant le début du test. Un volume de 40 mL de la culture algale est centrifugé à 2 000 g pendant 15 minutes. Un volume de 5 à 10mL de la solution de bicarbonate de soude, à une concentration de 15mg/L, est ajouté au culot après décantation du surnageant. Ensuite, la concentration des cellules algales est déterminée avec un hématimètre (Bright-Line, USA) par la microscopie optique.

La suspension algale est diluée avec la solution de bicarbonate de soude de façon à obtenir une concentration de 220 000 cellules/mL.

Un mélange de 10 µL de l'inoculum algal et 10 µL du milieu d'enrichissement sont ajoutés dans chaque puits contenant 200 µL de solution à tester pour obtenir une densité cellulaire à 10,000 cellules/mL. Le volume final dans chaque puits doit être de 220 µL.

Chaque microplaque est placée dans un sac en polyéthylène transparent bien scellé de façon à réduire l'évaporation au maximum pendant l'exposition. Ces microplaques sont placées sous la hotte à flux laminaire à une température de 24 °C ± 2 °C sous un éclairage continu d'une intensité de 4300 lux ± 10 % pendant 72 h.

2.4.5 Mesures et calculs

Le taux d'inhibition de la croissance des algues exposées aux substances d'essai pendant une période d'incubation de 72 heures nous permet de déterminer la toxicité.

Le test est accepté si le coefficient de variation (C_v) par rapport aux témoins ne dépasse pas 20%. Dans le cas contraire nous devons refaire le test.

Le pourcentage d'inhibition de la croissance algale est déterminé par la formule suivante :

$$I = \frac{(C - T)}{C} \times 100 \%$$

T : compte cellulaire de l'échantillon.

C : compte cellulaire du témoin.

2.5 Tests immunologiques avec la truite mouchetée *S. fontinalis*

Les protocoles expérimentaux utilisés dans ce travail découlent principalement des méthodes décrites dans «*Manual of immunological methods*» (Brousseau *et al.*, 1999).

2.5.1 Milieux de culture

Le milieu de base utilisé pour les manipulations des cellules phagocytaires et lymphocytaires est du RPMI-1640 sans bicarbonate de soude (Sigma). Le milieu a été dilué dans un litre d'eau pure (Milli-Q) et son pH est tamponné (pour le maintien du pH) avec 10 mM d'HEPES (Sigma, St-Louis, Missouri, USA). Un volume de 5 mL contenant de pénicilline (100 U/mL) et de streptomycine (100 µg/mL) a été également ajouté pour empêcher la croissance des bactéries. Le milieu est stérilisé par une filtration de 0,2 µm (SterivexTM- GP, Massachusetts, USA) puis gardé à une température de 4 °C jusqu'à son utilisation. Les différents types de milieux de culture ont été préparés quelques jours avant d'être utilisés pour les protocoles expérimentaux. Le RPMIc est composé du milieu de base plus 50 ml de sérum de veau fœtal (10 % SVF) (Sigma St-Louis, Missouri, USA). Le RPMI complet héparine (RPMIc *h*) est constitué de milieu de base plus 25 µL d'héparine (Hepalean[®] 10U/ml, USA) pour 25 ml de RPMIc.

2.5.2 Euthanasie et prélèvement du pronéphros

Les poissons ont été euthanasiés dans un bain anesthésiant de MS-222 (Ethyl 3-minobenzoate, methanesulfonic acide salt, Sigma, St-Louis, Missouri, USA), contenant 1g pour 10 L, plus 1g de bicarbonate de soude (AnalaR[®], Miami, Floride, USA) pour neutraliser l'acidité. Après l'euthanasie, le prélèvement se fait dans les conditions aseptiques sous une hotte à flux laminaire. Le *pronéphros* a été prélevé pour l'isolement des phagocytes. Celui-ci a été placé sur un tamis cellulaire stérile situé sur un pétrin stérile. Le *pronéphros* a été ensuite broyé avec le piston d'une seringue et le tamis a été rincé avec du RPMIc. La suspension cellulaire ainsi obtenue a été homogénéisée dans un volume final de 7 mL de RPMIh.

2.5.3 Isolement

La suspension cellulaire est ensuite déposée dans un tube de 15 mL contenant 10 mL de Lympholyte-M (Cedarlane, Ontario, Canada) préalablement centrifugés à 311 X g à une température de 20°C pendant 1 min. La suspension cellulaire est centrifugée pendant 30 min à 485 X g à une température de 15 °C. La mince couche blanche contenant les leucocytes est prélevée à l'interface du gradient et la suspension cellulaire est transférée dans un tube de 15 mL contenant 10 mL de PBS pour un ou deux lavages en récupérant les cellules par centrifugation pendant 10 min à 311 X g. Enfin, les cellules sont suspendues dans 2 ou 3 mL de RPMIc pour passer ensuite au compte cellulaire.

2.5.4 Compte cellulaire

Le compte cellulaire et l'évaluation de la viabilité par la cytométrie avec PI sont des étapes importantes, car il faut un nombre minimal de cellules vivantes pour réussir la procédure. Une viabilité de 80 % et plus est acceptable. Pour se faire, 50 µL de chaque suspension cellulaire est mélangés avec 50 µL de bleu de trypan (0,4%) dilué 10 fois. Le compte cellulaire est effectué (rapidement) avec un hématimètre par microscopie optique. La viabilité cellulaire est déterminée par le nombre de cellules qui ne sont pas colorées et qui représentent les cellules vivantes par rapport aux cellules mortes qui sont colorées par le bleu de trypan.

Par, la suite le volume final de la suspension cellulaire est ajusté pour obtenir une concentration finale de 1×10^6 cellules/mL pour le test de viabilité et de phagocytose.

2.5.5 Viabilité

Avant l'exposition des cellules, les eaux brutes sont passées sur un filtre de 0,45 µm tandis que les eaux traitées par procédé membranaire sont passées sur un filtre de 0,2µm. Chaque suspension cellulaire des trois poissons est mise dans des séries de tubes (500 µL par tube) et est exposée à différents échantillons d'effluents à tester. Dans chaque série de tubes de suspension cellulaire, quatre quantités différentes (10µL, 25µL, 50µL, 100µL) d'un même effluent sont ajoutées. Alors qu'une autre série de la suspension cellulaire est

réservée pour ajouter les mêmes quantités (10µL, 25µL, 50µL, 100µL) de RPMI utilisé comme témoins. Deux expositions ont été faites, une exposition de 3h puis 18 h d'incubation (total 21 h) et une exposition de 6 h puis 18 h d'incubation (total 24h) à une température de 15 °C.

La viabilité des cellules après exposition a été mesurée par cytométrie en flux en utilisant l'iodure de propidium (PI) (0,1 mg/L Sigma, St-Louis, Missouri, USA). Dans un premier temps, nous avons effectué une acquisition de cellules témoin pour obtenir l'auto-fluorescence afin d'ajuster le patron de viabilité comme le montre la **Figure 13**. Le SSC représente la complexité des cellules et le FSC représente la taille des cellules (**Figure 13A**). La fluorescence (FL3-H) (**Figure 13B**) est présentée sur un histogramme de l'intensité fluorescence de la population des macrophages délimitée par la zone R1. Le marqueur M1 détermine le pourcentage des cellules mortes marquées par le PI (Brousseau et al., 2000).

Par la suite, nous avons ajouté au témoin et à chaque suspension cellulaire exposées 4 µL d'iodure de propidium (PI). Ce dernier se lie aux acides nucléiques des cellules mortes qui deviennent fortement fluorescentes. Pour chaque 5000 événements, les résultats sont exprimés en pourcentage de cellules viables.

Les paramètres d'acquisition du cytomètre utilisés pour la viabilité sont présentés dans le **Tableau 8** ci-dessous :

Tableau 8: Les paramètres d'acquisition du cytomètre pour la viabilité.

Détecteur	Voltage	Gain	Mode
FSC	E00	2,00	Lin
SSC	223	1,00	Log
FL3-H	949	1,00	Log

Le tableau 8 représente les paramètres utilisés pour délimiter la population des macrophages par la zone R1.

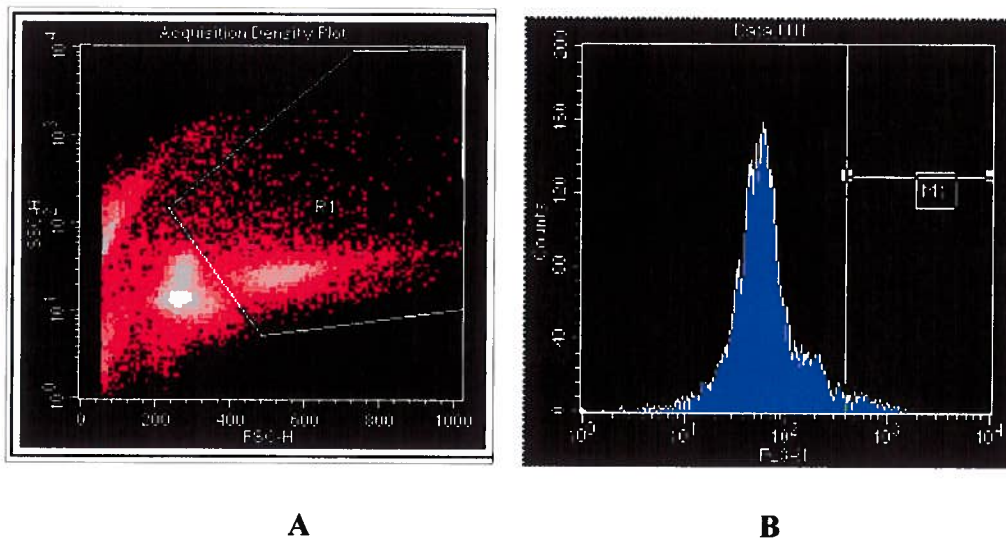


Figure 13: Modèle du patron de la viabilité

La figure A représente la distribution des cellules en fonction de la complexité (SSC-H) et de la taille (FSC-H).

La figure B représente l'intensité de la fluorescence des cellules vivantes. M1 est un marqueur qui détermine la fluorescence du PI lié aux cellules mortes.

2.5.6 Évaluation de la phagocytose

Un volume de 500 μL de chaque suspension cellulaire est mis dans des séries de tubes classés selon les concentrations à tester en triplicata. Après 3 et 6 h d'exposition avec les eaux, des billes de latex (Polysciences Inc, Bade-Wurtemberg, Allemagne) contenant de la fluorescéine ont été passées aux ultrasons pour 20 s afin de défaire les agrégats.

Les billes sont ajoutées pour obtenir une proportion de 100 billes pour 1 cellule (100 :1) soit 9,7 μL de microbilles de latex pour chaque aliquot de 500 μL de suspension cellulaire à 1×10^6 cellules/mL. Les billes et les cellules sont ensuite incubées pendant 18 h à une température de 15 °C. Après l'incubation, les cellules et les billes sont centrifugées à 150 X g pour 8 mn sur un gradient contenant 3 % de Sérum d'Albumine Bovin (BSA Bovin Serum Albumin, MP Biomedical, Illkirch, France) dilué dans du RPMIc pour séparer les cellules phagocytaires et les billes libres. Le surnageant est jeté, par contre le culot est mis en suspension dans une solution de fixation contenant 500 μL de formaldéhyde

(Sigma, St-Louis, Missouri, USA) à une concentration de 37% et 0,2 g d'azide de sodium (Fischer, New Jersey, USA) dilués dans 100 mL de PBS (Phosphate Bufferd Saline) (Sigma, St-Louis, Missouri, USA). Les suspensions cellulaires sont ensuite analysées avec un cytomètre en flux, FACScan (Becton Dickinson). Les paramètres d'acquisition du cytomètre et le patron de la phagocytose sont présentés ci-dessous :

Tableau 9: Les paramètres d'acquisition du cytomètre pour la phagocytose.

Détecteur	Voltage	Gain	Mode
FSC	E00	1,5	lin
SSC	273	1,00	log
FL1-H	227	1,00	log

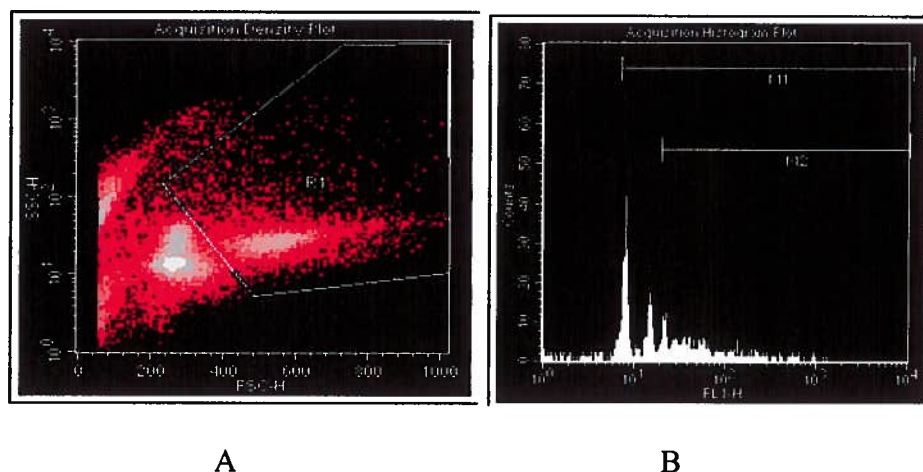


Figure 14: Le patron de la phagocytose

La figure A représente la distribution des cellules en fonction de la complexité (SSC-H) et de la taille (FSC-H). Le tableau 7 représente les paramètres utilisés pour délimiter la population des macrophages par la zone R1.

La figure B représente l'intensité de la fluorescence des billes phagocytées. M1 est un marqueur qui détermine le pourcentage des cellules qui ont phagocyté une bille et plus (la capacité phagocytaire). M2 est un marqueur qui détermine le pourcentage des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus (l'efficacité phagocytaire).

2.6 Statistiques

Les résultats du test de toxicité chronique avec les algues *P. subcapitata* présentés dans les figures (17, 18, 20, 21,22 et 23) sont la moyenne arithmétique et l'écart type du nombre de cellules algales (cellule/mL) qui sont calculées à partir de 3 répliques. L'analyse statistique des résultats a été effectuée en utilisant le logiciel Statistica, version 6.0. Les comparaisons statistiques entre les groupes sont réalisées par l'analyse de variance ANOVA one-way, suivies du test Post Hoc soit Tukey HSD, avec $p < 0,05$.

Les résultats pour le test immunologique présentés dans les figures (24, 25, 26, 27,28 et 29) sont la moyenne arithmétique des résultats obtenus pour trois individus ($n=3$ poissons). Les comparaisons statistiques entre les groupes sont réalisées par l'analyse de variance ANOVA one-way, suivies du test Post Hoc soit Tukey HSD, avec $p < 0,05$. Le logiciel Statistica, version 6.0 (StatSoft, Tulsa , OK) a été utilisé.

3. RÉSULTATS ET ANALYSES

3.1 Tests physicochimiques

Pour connaître la qualité des effluents, nous avons procédé à des tests physicochimiques avant d'entamer les tests écotoxicologiques et immunologiques. Les tests colorimétriques sont faits pour les effluents bruts et traités en même temps dans un laps de temps court, afin de minimiser les interférences qui peuvent être causées par une variation de la température ou de l'humidité. Les résultats sont représentés sous forme de tableaux.

3.1.1 La station d'épuration des eaux usées de Montréal

Les résultats montrent qu'il y a une réduction de la conductivité de 25% pour E_1TNF_1 et de 98% pour E_1TNF_2 par rapport aux E_1B . La NF1 et la NF2 ont réduit les éléments chimiques. De plus, la NF2 a complètement éliminé l'azote ammoniacal, le chrome, le fer et l'aluminium.

Tableau 10: Propriétés physicochimiques des effluents de la station d'épuration des eaux usées de la Ville de Montréal(E_I).

Paramètres	E _I B	E _I TNF ₁	E _I TNF ₂
Λ (μS)	978,00	728,00	19,08
T (°C)	25,40	26,10	26,40
pH	6,89	6,95	5,14
SO ₄ (mg/L)	Nd	nd	nd
Cl (mg/L)	31,10	20,90	0,70
Mg (mg/L)	79,00	50,80	5,50
Al (mg/L)	0,13	0,00	0,00
Fe (mg/L)	0,30	0,08	0,00
Cr (mg/L)	0,02	0,01	0,00
NH ₃ -N (mg/L)	3,30	2,90	0,00

Le tableau ci-dessus représente les résultats des paramètres physicochimiques (Λ, pH, T, SO₄, Cl, Mg, Al, Fe, Cr et NH₃-N) obtenus pour les effluents bruts (E_IB) et traités par les nanofiltration (E_ITNF₁ et E_ITNF₂) de la station de la Ville de Montréal.

nd : non déterminé. 0,00 : inférieur à la limite de détection de l'appareil.

3.1.2 Les effluents de l'UTES de Mercier

Les résultats montrent qu'il y a une réduction de la conductivité de 99% pour E_{II}TNF₂ par rapport aux E_{II}B. Les éléments chimiques sont plus réduits pour E_{II}TNF₂ qu'E_{II}TNF₁. Par contre, l'azote ammoniacal et l'aluminium sont complètement éliminés par la NF2.

Tableau 11: Propriétés physicochimique des effluents de l'UTES de la Ville de Mercier(E_{II})

Paramètres	E _{II} B	E _{II} TNF ₁	E _{II} TNF ₂
Λ (μS)	1 233,00	1 557,00	11,72
T (°C)	14,09	22,62	22,10
pH	7,02	7,62	5,45
SO ₄ (mg/L)	250,00	222,00	7,65
Cl (mg/L)	Nd	nd	nd
Mg (mg/L)	452,00	333,00	134,00
AL (mg/L)	0,22	0,18	0,00
Fe (mg/L)	0,56	0,44	0,23
Cr (mg/L)	Nd	nd	nd
NH ₃ -N(mg/L)	1,00	0,30	0,00

Le tableau ci-dessus représente les résultats des paramètres physicochimiques (Λ, pH, T, SO₄, Cl, Mg, al, Fe, Cr et NH₃-N) obtenus pour les effluents bruts (E_{II}B) et traités par les nanofiltration (E_{II}TNF₁ et E_{II}TNF₂) de l'UTES de la Ville de Mercier. nd : non déterminé. 0,00 : inférieur à la limite de détection de l'appareil.

3.1.3 Les eaux souterraines du Technoparc

Pour le projet du Technoparc, les analyses physicochimiques sont faites en 2006-2007 par le laboratoire Bodycote. Le tableau 12 représente les résultats sur la qualité physicochimique des trois puits (Zones) du Technoparc retirés du rapport final de la compagnie Hayka Inc.

Le tableau montre qu'il y a une réduction de la conductivité de 26% pour E_{III}TZ1, de 22% pour E_{III}TZ2 et de 44,5% pour E_{III}TZ3 par rapport aux eaux brutes (E_{III}B). Les éléments chimiques comme l'azote ammoniacal, le baryum, le fer, les métaux lourds et la DCO sont remarquablement éliminés par le procédé membranaire (Lebrun et al.,2007).

Tableau 12: Qualité physico-chimique des trois zones du Technoparc(E_{III}) de la Ville de Montréal (Lebrun et al., 2007).

Paramètres	E _{III} BZ1	E _{III} TZ1	E _{III} BZ2	E _{III} TZ2	E _{III} BZ3	E _{III} TZ3
Conductivité (us)	364,00	270,00	229,00	179,00	256,00	142,00
PH	7,10	6,30	7,20	6,30	7,20	5,70
NH ₃ -N(mg/L)	68,60	<0,02	29,40	<0,02	28,60	<0,02
DCO (mg/L)	68,00	<5,00	41,00	<5,00	41,00	<5,00
COT (mg/L)	22,00	0,80	13,50	0,90	20,00	1,90
Ba (mg/L)	2,20	<0,01	0,77	<0,01	2,09	0,01
Ca (mg/L)	185,00	0,78	188,00	1,27	141,00	0,87
Cl (mg/L)	445,00	68,30	180,00	20,04	220,00	27,20
Fe (mg/L)	0,10	<0,01	0,04	<0,01	0,04	<0,01
Mg (mg/L)	91,40	0,54	77,10	0,79	81,20	0,59
K (mg/L)	69,00	2,30	53,40	1,50	46,10	1,50
Na (mg/L)	343,00	53,20	150,00	43,50	211,00	26,10
Sr (mg/L)	3,60	0,01	2,12	0,01	3,02	0,02
SO ₄ (mg/L)	19,90	Nd	n-d	n-d	n-d	n-d
Métaux lourds (mg/L)	2,40	<0,11	1,06	0,08	2,28	0,07

Le tableau ci-dessus représente aussi les résultats des paramètres physicochimiques (A, pH, T, NH₃-N, DCO, COT, Ba, Ca, Cl, Fe, Mg, K, Na, Sr, SO₄ et métaux lourds) obtenus pour les eaux bruts (E_{III}B) et les eaux traitées (E_{III}TZ) des trois zones du Technoparc. nd : non déterminé.

3.2 Tests écotoxicologiques

Toutes les méthodes toxicologiques d'environnement Canada recommandent l'emploi d'au moins un toxique de référence.

Le toxique de référence est un étalon de précision, il permet de déterminer si le laboratoire peut obtenir des mesures cohérentes et précises, de vérifier le bon fonctionnement du dispositif expérimental. Il permet aussi de déterminer la fiabilité des données obtenues sur la qualité des réactifs biologiques et chimiques et la sensibilité des organismes à la matière d'essai. Pour les essais répétés avec la même eau de dilution dans le même laboratoire, un taux de coefficient de variation moins de 30% est considéré comme un taux acceptable (Environnement Canada, 1999). Dans notre expérience nous avons utilisé le zinc comme toxique de référence pour le test aiguë et chronique.

La **Figure 15** (A et B) représente deux courbes standards utilisées pour déterminer la concentration en (mg/L) qui inhibe 50 % de luminescence chez les bactéries ou 50% de la croissance chez les algues.

Pour le test aiguë avec la bactérie *v. fisheri*, la CI50 trouvée est de (0,018 mg/L \pm 0,003), le coefficient de variation est inférieur à 30%.

Pour le test chronique avec les algues *P. subcapitata* la CI50 est de (0,010mg/L \pm 1,8) là aussi le coefficient de variation est inférieur à 30%.

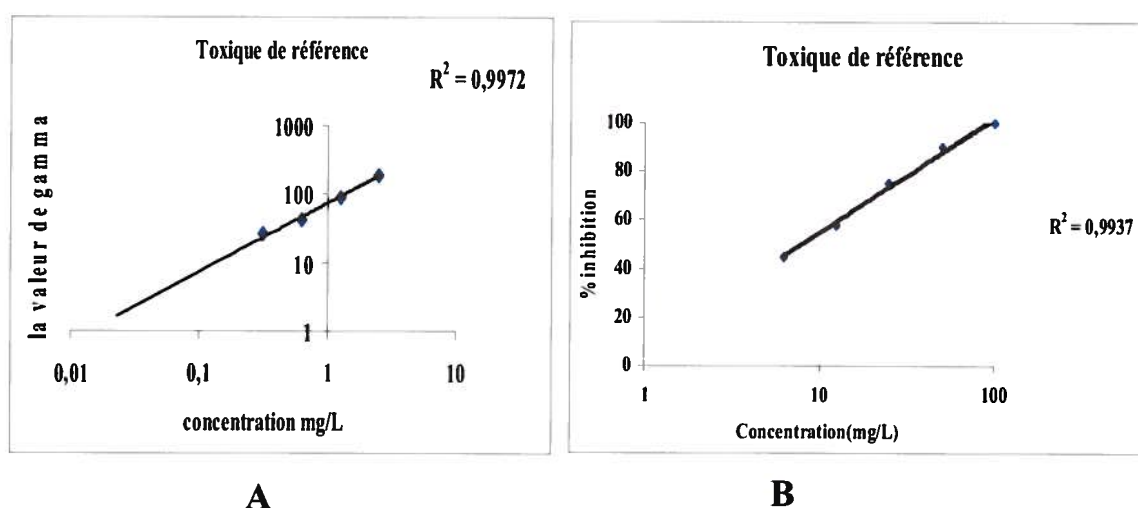


Figure 15: Courbes standards

*La courbe standard du test aiguë avec les bactéries *V.fischeri* (A) est représentée par le logarithme de la valeur (γ) en fonction du logarithme de la concentration (mg/L) du $ZnSO_4$.*

*La courbe standard du test chronique avec les algues *P. subcapitata* (B) est représentée par le % de l'inhibition en fonction du logarithme de la concentration (mg/L) du $ZnSO_4$.*

3.2.1 Test de toxicité aiguë avec les bactéries *V. fischeri*

Les résultats du test de toxicité aiguë avec les bactéries *V. fischeri* sont représentés sous forme de tableaux. Nous avons déterminé pour chaque concentration (%v/v) de l'échantillon le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne.

3.2.1.1 La station d'épuration des eaux usées de Montréal

Les résultats du test de toxicité aiguë montrent un pourcentage d'inhibition de la luminescence de 44% qui est trouvé dans les effluents de la station E₁B (Tableau 13). La valeur de 36,7 représente la concentration (%v/v) d'inhibition significative de 25% de la luminescence bactérienne. Alors que, les inhibitions maximales trouvées dans les eaux traitées E₁TNF₁ est de 19% pour E₁TNF₁ (Tableau 14) et de (moins de 1%) pour E₁TNF₂ (Tableau 15). Ces valeurs d'inhibition obtenues par les eaux traitées sont inférieures à la valeur obtenue par E₁B. Une stimulation significative est observée pour les E₁B et aussi pour les E₁TNF₂ (Tableau 13, 15).

Tableau 13: Les effluents de la station d'épuration de la Ville de Montréal (E₁B)

Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	0,0
3,12	-31,6
6,25	-10,7
12,5	1,6
25	19,1
50	44,7

Cl ₂₅ -15 mn (%v/v)	U.T
36,7	2,7

Le tableau ci-dessus représente le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne pour chaque concentration (%v/v) d'E₁B. Pour une faible concentration il y a une stimulation significative. Par contre, pour une concentration de 36,7 %v/v une inhibition de 25% est observée. UT est l'unité toxique qui est calculée en divisant 100 sur le pourcentage de la dilution provoquant 25% d'inhibition de la luminescence. UT=2,7

Tableau 14: Les effluents traités par la nanofiltration 1 (E_ITNF₁)

Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	0,0
3,12	8,1
6,25	- 8,6
12,5	- 3,3
25	10,0
50	19,0

Le tableau ci-dessus représente le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne pour chaque concentration (%v/v) d'E_ITNF₁. Aucune stimulation significative ni inhibition (CI25 et CI50) ne sont observées.

Tableau 15: Les effluents traités par la nanofiltration 2 (E_ITNF₂)

Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	0,0
3,12	-39,5
6,25	-6,2
12,5	-9,8
25	-1,7
50	-4,0

Le tableau ci-dessus représente le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne pour chaque concentration (%v/v) d'E_ITNF₂. Pour une faible concentration il y a une stimulation significative.

3.1.3.1 Les effluents de l'UTES de Mercier

Une toxicité significative qui est expliquée par une inhibition de plus de 50% est trouvée dans les effluents de l'UTES (E_{II}B) (**Tableau 16**), la concentration (27,17 %v/v) des E_{II}B induit une inhibition de 50% de la luminescence bactérienne.

Tableau 16: Les effluents de l'UTES de la Ville de Mercier (E_{II}B)

Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	0,00
3,125	8,23
6,25	8,91
12,5	3,11
25	32,64
50	68,57

CI 50-15nm (%v/v)	U.T
27,17	3, 6

Le tableau ci-dessus représente le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne pour chaque concentration (%v/v) d'E_{II}B. Une inhibition de 50% est observée à partir d'une concentration de 27,17 % v/v. UT est l'unité toxique qui est calculée en divisant 100 sur CI50 (%v/v). UT=3,6.

Par contre, pour les effluents traités par les deux membranes de nanofiltration aucune inhibition significative n'est observée. Or, l'inhibition maximale observée pour E_{II}TNF₁ est de 16 % (Tableau 17) et l'inhibition maximale observée pour E_{II}TNF₂ est de 15 % (Tableau 18).

Tableau 17: Les effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 1 (E_{II}TNF₁)

Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	0,00
3,125	8,70
6,25	1,21
12,5	2,12
25	16,80
50	14,96

Le tableau ci-dessus représente le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne pour chaque concentration (%v/v) d'E_{II}TNF₁. Aucune stimulation significative ni inhibition (CI25 et CI50) ne sont observées.

Tableau 18: Les effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 2 (E_{II}TNF₂)

Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	0
3,125	5
6,25	1
12,5	2
25	9
50	15

Le tableau ci-dessus représente le pourcentage d'inhibition de la luminescence bactérienne pour chaque concentration (%v/v) d'E_{II}TNF₂. Aucune stimulation significative ni inhibition (CI25 et CI50) ne sont observées.

3.1.3.2 Les eaux souterraines du Technoparc

Dans cette partie nous allons comparer les résultats obtenus par le laboratoire Bodycote (Lebrun et al., 2007) et les résultats que nous avons obtenus dans le laboratoire du professeur Michel Fournier (Inrs-Armand Frappier).

Le Microtox et l'appareil utilisé par le laboratoire de Bodycote pour déterminer la toxicité aigue. Par conte, notre laboratoire a utilisé le luminomètre pour mesurer la luminescence des bactéries.

Aucune inhibition n'est décelée sur les E_{III}B (**Tableau 19 : A, C, E**). Par contre, les eaux traitées E_{III}TZ1 et E_{III}TZ3 présentent une inhibition significative plus de 25% (**Tableau 19 : B, F et I**). Une stimulation significative de plus de 10% est observée pour E_{III}BZ2 (**Tableau 19 C**) et pour E_{III}TZ3 (**Tableau 19 J**).

Tableau 19: Résultats des trois puits des eaux du Technoparc (E_{III})

Bodycote (Lebrun et al.,2007)		Laboratoire de Michel Fournier			
(A) E_{III}BZ1		(B) E_{III}TZ1		(H) E_{III}TZ1	
Concentration %(v/v)	Inhibition (%)	Concentration %(v/v)	Inhibition (%)	Concentration %(v/v)	Inhibition (%)
0	0,0	0	0,0	0	0,0
1,56	-4,4	1,56	4,1	3,12	18,3
3,13	-4,6	3,13	-0,5	6,25	10,4
6,25	4,6	6,25	8,0	12,5	22,2
12,5	4,5	12,5	7,2	25	13,6
25	6,4	25	20,0	50	15,8
50	17,4	50	43,5		
(C) E_{III}BZ2		(D) E_{III}TZ2		(I) E_{III}TZ2	
Concentration %(v/v)	Inhibition (%)	Concentration %(v/v)	Inhibition (%)	Concentration %(v/v)	Inhibition (%)
0	0,0	0	0,0	0	0,0
1,56	-5,3	1,56	-3,5	3,12	-5,0
3,13	-17,7	3,13	-0,4	6,25	29,5
6,25	-1,3	6,25	1,3	12,5	17,5
12,5	-9,1	12,5	4,7	25	28,3
25	-0,3	25	1,1	50	18,5
50	10,3	50	18,8		
(E) E_{III}BZ3		(F) E_{III}TZ3		(J) E_{III}TZ3	
Concentration %(v/v)	Inhibition (%)	Concentration %(v/v)	Inhibition (%)	Concentration %(v/v)	Inhibition (%)
0	0,0	0	0,0	0	0,0
1,56	1,1	1,56	-6,5	3,12	11,4
3,13	-7,1	3,13	-4,9	6,25	5,7
6,25	-6,8	6,25	2,0	12,5	-6,0
12,5	-7,6	12,5	8,2	25	-5,0
25	-3,3	25	18,8	50	-55,0
50	4,6	50	43,0		

3.2.2 Test de toxicité chronique avec les algues *P. subcapitata*

Avant de procéder aux tests de toxicité, nous avons évalué le rendement et l'état de la santé des algues *Pseudokirchneriella subcapitata* par une courbe de croissance (Rand and Petrocelli, 1985).

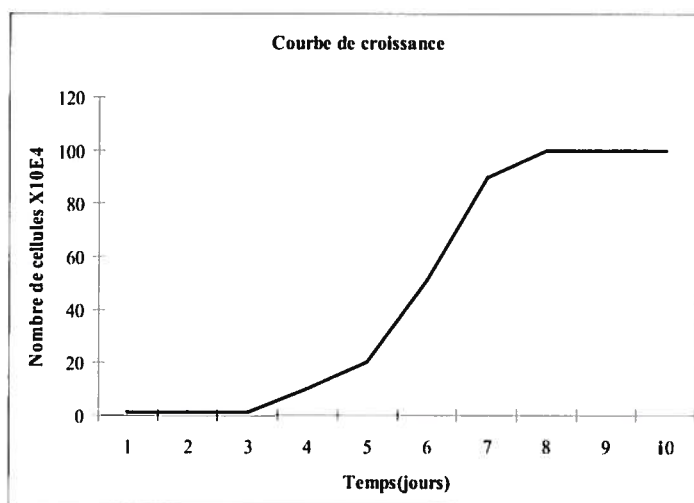


Figure 16: La courbe de croissance algale

La courbe de croissance de la figure 16 est déterminée par le comptage quotidien du nombre des cellules algales ($\times 10^4$) cultivées dans leur milieu de culture. Cette courbe montre que la phase exponentielle se situe entre le 4^{ème} et le 7^{ème} jour.

L'autre objectif de cette courbe est de déterminer la phase exponentielle pour produire par repiquage d'autres cultures qui serviront à la préparation de l'inoculum pour le départ des essais de toxicité (**Figure 16**). La phase exponentielle est située entre 4 et 7 jours et le plateau est situé entre 8 et 10 jours.

3.2.2.1 La station d'épuration des eaux usées de Montréal

Aucune inhibition de la croissance des algues n'est trouvée pour les effluents de Montréal brutes (E_1B) et traités (E_1TNF_1 et E_1TNF_2), (**Tableau 20, 21 et 22**). Par contre, une stimulation significative de la croissance algale est observée pour E_1B ($p = 0,03$) et E_1TNF_1 ($p = 0,004$, $p = 0,001$ et $p = 0,0005$) (**Figure 17 et 18**).

Tableau 20: Les effluents E₁B

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X 10 ⁴ /mL)	Inhibition (%)
témoin	137,5	0,0
6,25	245,0	-78,1
12,5	191,6	-39,3
25	180,0	-30,8
50	183,3	-33,3
100	163,3	-18,7

Le tableau représente le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance des algues obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E₁B. Une stimulation significative est constatée à partir d'une concentration qui est de 6,25%v/v.

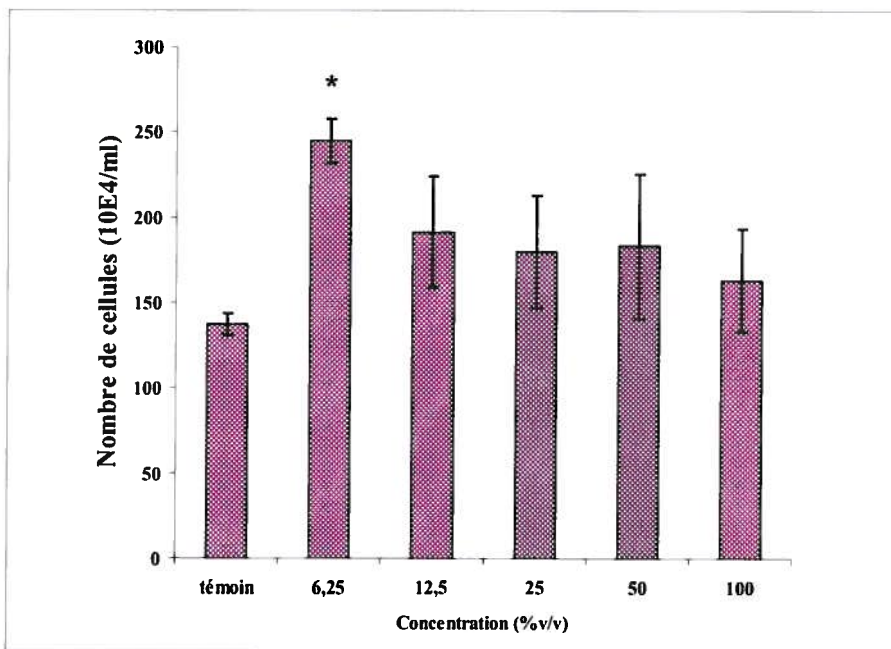


Figure 17: La croissance des algues par rapport aux concentrations E₁B

L'histogramme ci-dessus représente la moyenne de la croissance des algues (X10⁴) obtenu pour 3 triplicatas par chaque concentration (%v/v) d'E₁B. Une stimulation significative de la croissance des algues est observée pour une faible concentration (*p < 0,05).

Tableau 21: Les effluents traités E₁TNF₁

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X10 ⁴ /mL)	Inhibition (%)
témoin	130	0,0
6,25	226	-74,0
12,5	238	-83,0
25	213	-64,0
50	173	-33,0
100	100	22,6

Le tableau représente le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E₁TNF₁. Une stimulation significative est obtenue à partir d'une faible concentration qui est de 6,25%v/v.

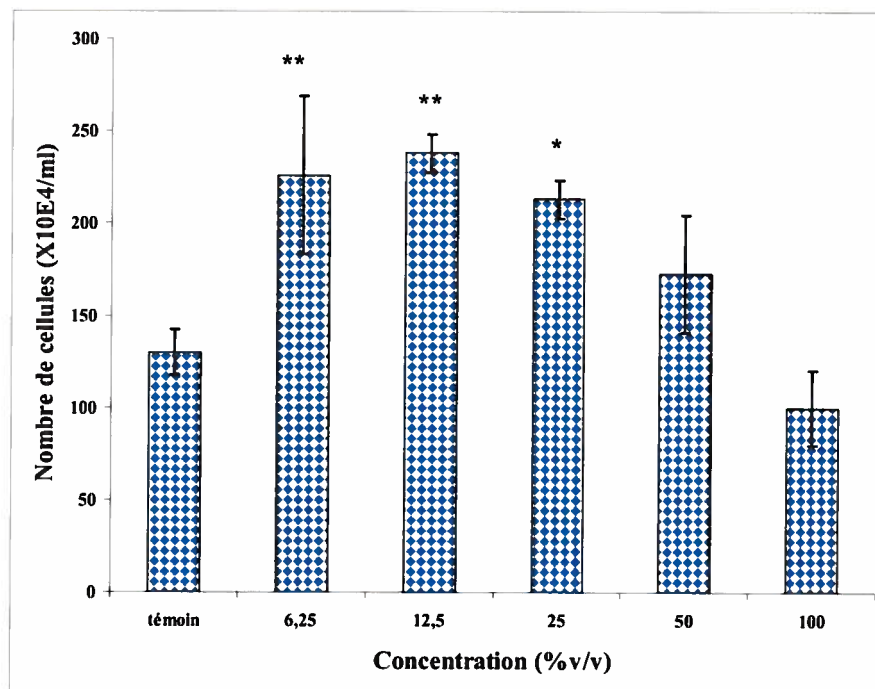


Figure 18: La croissance des algues par rapport aux concentrations E₁TNF₁

L'histogramme ci-dessus représente la moyenne de la croissance des algues (X10⁴) obtenus pour 3 triplicatas par chaque concentration (%v/v) d'E₁TNF₁. Une stimulation significative de la croissance des algues est observée à partir d'une concentration de 6,25%v/v (* p < 0,05 et **p ≤ 0,01).

Tableau 22: Les effluents traités E_ITNF₂

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X10⁴ /mL)	Inhibition (%)
témoin	160	0,0
6,25	173	-8,0
12,5	168	-5,0
25	153	4,0
50	148	7,5
100	146	9,0

Le tableau représente le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_ITNF₂. Aucune stimulation ni inhibition ne sont observées.

3.2.2.2 Les effluents de l'UTES Ville de Mercier

Un effet de stimulation et d'inhibition sont observés pour les effluents brutes (E_{II}B) de Mercier. Une stimulation significative ($p = 0,03$) (**Tableau 23**) est observée à partir d'une concentration de 6,25%v/v. Une inhibition de 50% de la croissance des algues est trouvée pour une concentration de 65,5 %v/v d'E_{II}B avec une unité de toxique de 1,53 ($p = 0,02$ et $p = 0,01$).

Tableau 23: Les effluents de l'UTES E_{II}B

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X10⁴/mL)	Inhibition (%)
témoin	160	0,0
6,25	410	-156,0
12,5	266	-66,5
25	240	-50,0
50	100	37,5
100	26	83,3

CI50 (%v/v)	U.T
65	1,53

Le tableau représente le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_{II}B. Une stimulation significative est observée à partir d'une concentration (6,25%v/v); alors qu'une inhibition de 50% de la croissance des algues est constatée à partir d'une concentration de 65,5%v/v. U T= 1,53.

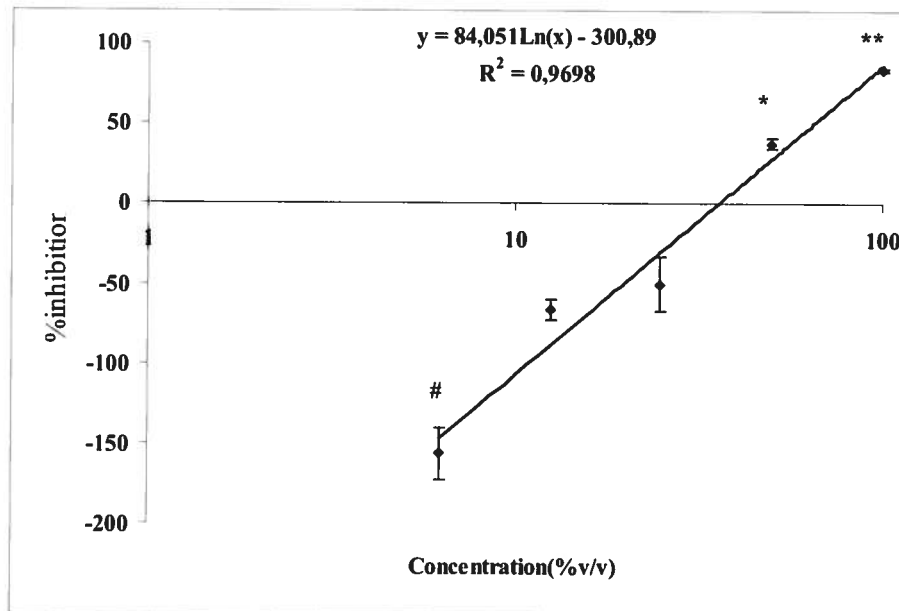


Figure 19: Courbe pour déterminer la CI 25 et la CI 50

Le graphique ci-dessus représente le % d'inhibition des cellules algales en fonction de la concentration (%v/v) d'EII B. Une stimulation significative de la croissance des algues est observée à partir d'une faible concentration de 6,25%v/v (# $p < 0,05$). Une inhibition significative de 50% de la croissance des algues est observée pour une concentration de 65,5%v/v ($p < 0,05$ et ** $p \leq 0,01$).*

Nous avons effectué deux tests de toxicité pour les $E_{II}TNF_1$ (**Figure 20**). Un test préliminaire sans avoir ajusté le pH des effluents $E_{II}TNF_1$ dans le but de connaître l'état des algues. Dans le deuxième test nous avons ajusté le pH des effluents $E_{II}TNF_1$ suivant le protocole d'Environnement Canada. Avec le premier test à un pH basique, nous avons obtenu une stimulation significative de la croissance des algues pour une concentration de 6,25%v/v d' $E_{II}TNF_1$, puis une inhibition de 50% de la croissance algale qui est causée par une concentration de 38 %v/v avec une unité de toxique de 2,63 (**Tableau 24 A**). Par contre, pour le test avec un pH ajusté à 7 (**Tableau 24 B**) une stimulation significative est observée pour une faible c qui est de 6,25%v/v.

Tableau 24: Les effluents E_{II}TNF₁

(A)

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X10 ⁴ /mL)	Inhibition (%)
témoïn	63,1	0,0
6,25	126,6	-100,0
12,5	80,0	-7,6
25	42,3	32,7
50	9,0	86,5
100	4,0	95,0

CI50 (%v/v)	U.T
38	2,63

(B)

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (10E4/mL)	Inhibition (%)
témoïn	131,0	0,0
6,25	326,6	-140,0
12,5	166,6	-27,0
25	153,3	-17,0
50	126,6	3,2
100	120,3	8,1

Les deux tableaux (A et B) représentent le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_{II}TNF₁.

(A) Représente les résultats obtenus pour une eau basique (pH = 9). Le tableau montre une stimulation significative de la croissance des algues pour une concentration de 6,25%v/v et une inhibition de 50% à une concentration de 38 %v/v. UT = 2,63.

(B) Représente les résultats obtenus pour une eau ajustée (pH = 7). Le tableau montre une stimulation significative pour une faible concentration qui est de 6,25%v/v.

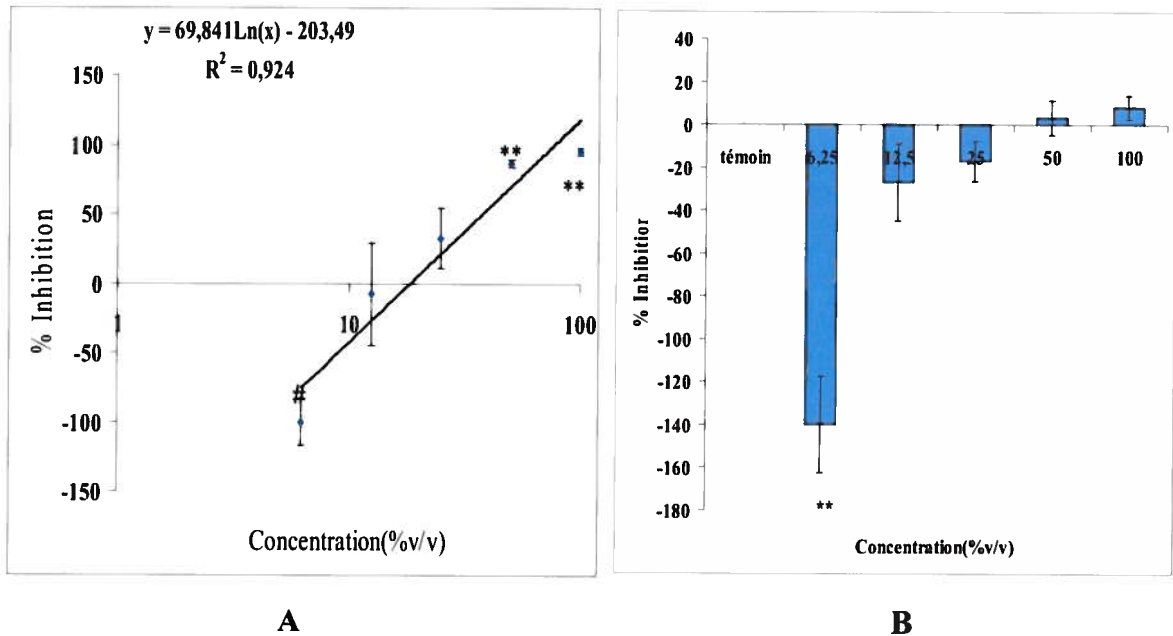


Figure 20: La présentation graphique pour les effluents de l'UTES E_ITNF₁

Les deux graphiques ci-dessus représentent le % d'inhibition des cellules algales en fonction de la concentration (%v/v) d'E_{II}TNF₁ avec un pH =9 (A) et la moyenne de la croissance des cellules algales (X104) en fonction de la concentration (%v/v) d'E_{II}TNF₁ avec un pH =7(B).

(A) Les résultats montrent une stimulation significative de la croissance des algues pour une concentration de 6,25%v/v d'E_{II}TNF₁ (# $p < 0,01$) et une inhibition significative de 50% pour une concentration de 38 %v/v (** $p \leq 0,01$).

(B) Les résultats montrent une stimulation significative observée pour une faible concentration de 6,25%v/v d'E_{II}TNF₁ (** $p \leq 0,01$).

Pour E_{II}TNF₂ (Tableau 25) une inhibition de 50% de la croissance des algues est observée aussi à une concentration de 73%v/v, son unité de toxique est de 1,3.

Tableau 25: Les effluents E_{II}TNF₂

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X10 ⁴ /mL)	Inhibition (%)
témoin	85	0,0
6,25	78	3,6
12,5	71	11,6
25	70	15,6
50	65	21,0
100	2	96,0

CI50 (%v/v)	U.T
73	1,3

Le tableau ci-dessus représente le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_{II}TNF₂. Les résultats montrent une inhibition de 50% de la croissance des algues pour une concentration de 73%v/v. l'UT = 1,3.

3.2.2.3 Les eaux souterraines du Technoparc

Aucune inhibition significative observée pour les eaux traitées des trois zones du Technoparc (E_{III}TZ1, E_{III}TZ 2 et E_{III}TZ3).

Tableau 26: Les eaux du Technoparc E_{III}ETZ₁

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules (X10 ⁴ /mL)	Inhibition (%)
témoin	643,3	0,0
6,25	573,3	10,9
12,5	616,6	4,2
25	733,3	-14,0
50	760,0	-18,1
100	766,6	-19,2

Le tableau ci-dessus représente le nombre de cellules algales (X10⁴) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_{III}ETZ₁. Aucune inhibition ni stimulation ne sont observées.

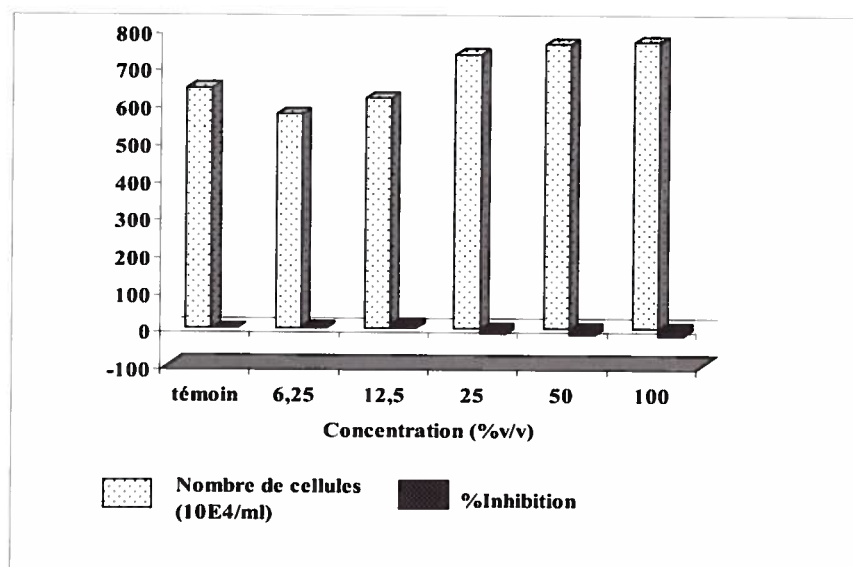


Figure 21: L'histogramme pour le nombre de cellules et l'inhibition de la croissance algale pour E_{III}TZ₁

L'histogramme ci-dessus représente la moyenne de la croissance des algues ($X10^4$) pour 3 triplicatas et le % d'inhibition en fonction de la concentration (%v/v) d'E_{III}TZ₁. Aucune inhibition ni stimulation ne sont observées.

Dans le cas des eaux E_{III}TZ₂, une stimulation significative de la croissance des algues est constatée pour une dilution de 100 %v/v (Tableau 27).

Tableau 27: Les eaux du Technoparc E_{III}ETZ₂

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules ($X10^4$ /mL)	Inhibition (%)
témoin	676,6	0,00
6,25	505,0	25,30
12,5	533,3	21,17
25	740,0	-9,30
50	720,0	-6,40
100	880,0	-30,60

Le tableau ci-dessus représente le nombre de cellules algales ($X10^4$) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_{III}TZ₂. Une stimulation significative de la croissance des algues est observée pour une concentration de 100%v/v.

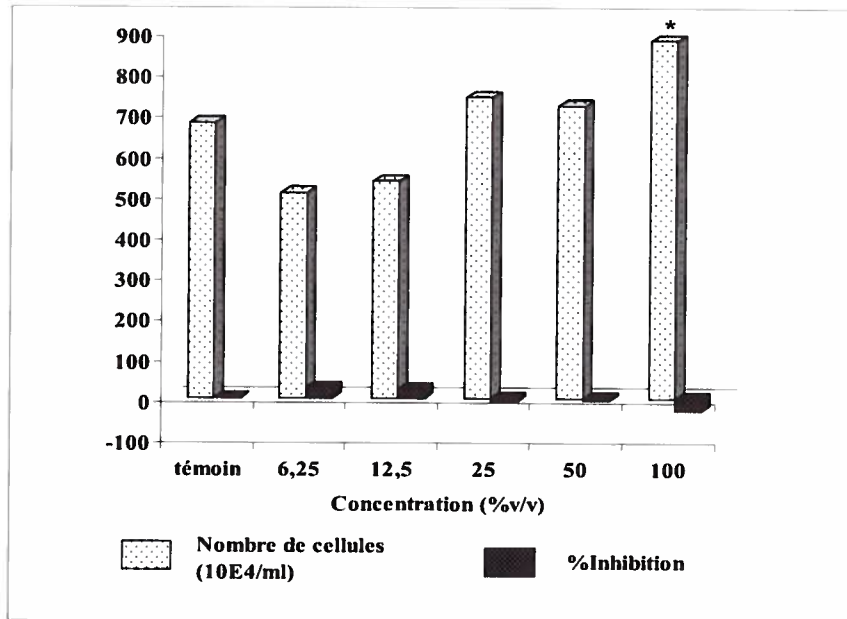


Figure 22: L'histogramme pour le nombre de cellules et l'inhibition de la croissance algale pour E_{III}TZ₂

L'histogramme ci-dessus représente la moyenne de la croissance des algues ($X10^4$) pour 3 triplicatas et le % d'inhibition en fonction de la concentration (%v/v) d'E_{III}TN₂. Une stimulation significative ($p < 0,05$) est observée à une forte concentration (100%v/v).*

Les résultats pour les eaux E_{III}TZ₃ montrent (Tableau 28) une stimulation de la croissance des algues à partir d'une dilution de 50%v/v.

Tableau 28: Tableau 28: Les eaux du Technoparc E_{III}ETZ₃

Concentration (%v/v)	Nombre de cellules ($X10^4$ /mL)	Inhibition (%)
témoin	216,0	0,0
6,25	280,0	-29,4
12,5	213,0	1,2
25	233,0	-8,0
50	316,6	-46,1
100	346,6	-60,0

Le tableau ci-dessus représente le nombre de cellules algales ($X10^4$) et le pourcentage d'inhibition de la croissance algale obtenus pour chaque concentration (%v/v) d'E_{III}TZ₃. Les résultats montrent une stimulation de la croissance des algues à partir d'une concentration de 50%v/v.

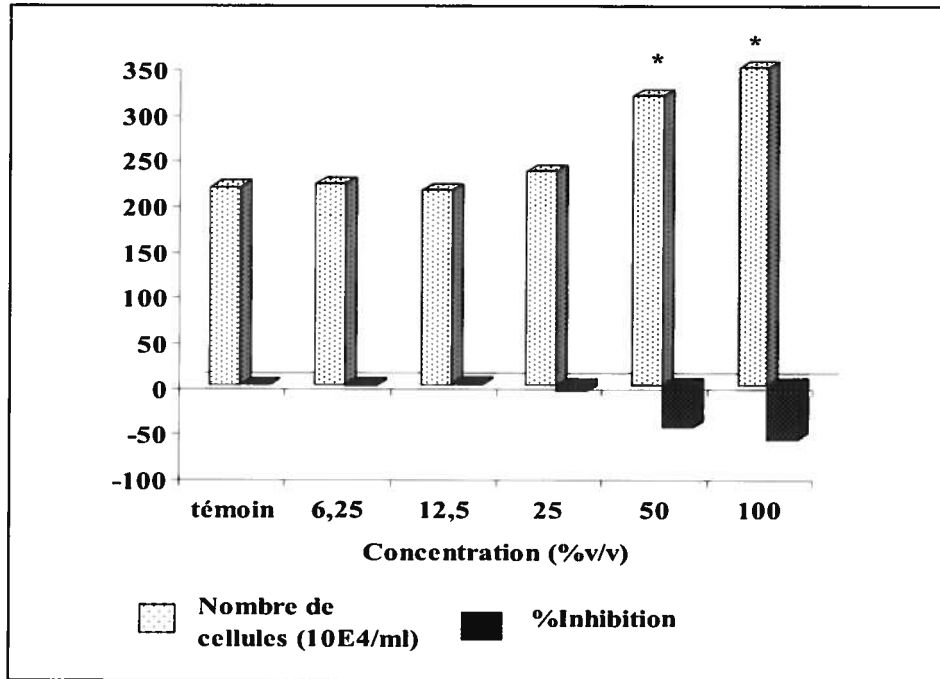


Figure 23: L’histogramme pour le nombre de cellules et l’inhibition de la croissance algale pour E_{III}TZ₃

L’histogramme ci-dessus représente la moyenne de la croissance des algues ($X10^4$) pour 3 triplicatas et le % d’inhibition en fonction de concentration (%v/v) d’E_{III}ETNZ₃. Une stimulation significative est observée à partir d’une concentration de 50 %v/v ($p < 0,05$).*

Si nous observons les résultats obtenus par le laboratoire Bodycote (Lebrun et al. 2007), nous constatons une inhibition significative sur la croissance des algues pour les eaux brutes (E_{III} B) et les eaux traitées (E_{III}TZ) du Technoparc (Tableau 29).

Tableau 29: Résultats du test de Bodycote (Lebrun et al., 2007)

E _{III} BZ1		E _{III} TZ1	
CI50 % v/v (I.C. 95%)	U.T.	CI50 % v/v (I.C. 95%)	U.T.
9,7(7,9- 11,1)	10,3	19.1 (14.5 - 23.5)	5,2
Concentration (%v/v)	Inhibition (%)	Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	---	0	---
6,25	16,4	6,25	1,2
12,5	70,3	12,5	32,6
25	77,8	25	61,3
50	92,1	50	91,7
100	98,0	100	98,0
E _{III} BZ2		E _{III} TZ2	
CI50 % v/v (I.C. 95%)	U.T.	CI50 % v/v (I.C. 95%)	U.T.
27,5(22,5 - 32)	3,6	14.0 (12.3 - 15.9)	7,1
Concentration (%v/v)	Inhibition (%)	Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	---	0	---
6,25	-11,4	6,25	14,4
12,5	-7,6	12,5	40,8
25	43,9	25	96,8
50	88,2	50	99,6
100	98,1	100	99,5
E _{III} BZ3		E _{III} TZ3	
CI50 % v/v (I.C. 95%)	U.T.	CI50 % v/v (I.C. 95%)	U.T.
46.1 (37.7 - 53.3)	2,2	28.1 (23.9 - 31.6)	3,6
Concentration (%v/v)	Inhibition (%)	Concentration (%v/v)	Inhibition (%)
0	---	0	---
6,25	-52,3	6,25	4,8
12,5	-37,3	12,5	20,4
25	-17,5	25	42,8
50	56,6	50	85,9
100	98,5	100	99,6

3.2.3 Tests immunologiques

Nous avons utilisé les macrophages de truite mouchetée ($n=3$) pour évaluer la toxicité des effluents. Dans chaque série de tubes de suspension cellulaire, quatre quantités différentes (10 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L) d'un même effluent sont ajoutées. Alors qu'une autre série de la suspension cellulaire est réservée pour ajouter les mêmes quantités (10 μ L, 25 μ L, 50 μ L, 100 μ L) de RPMI utilisé comme témoins. Deux expositions ont été faites sur les cellules : Une exposition de 3 heures suivie de 18 heures d'incubation avec les E_IB, E_ITNF₁, E_ITNF₂, E_{II}B, E_{II}TNF₁, E_{II}TNF₂, E_{III}TZ1, E_{III}TZ2 et E_{III}TZ3 puis une exposition de 6 heures suivie de 18 heures d'incubation avec les mêmes eaux.

Le but du test de la phagocytose est de déterminer la capacité et l'efficacité phagocytaire des macrophages de truite mouchetée exposées aux eaux. Un test de viabilité est fait en même temps avec le test de la phagocytose pour déterminer l'état des cellules incubées et valider ainsi, le test de phagocytose.

Les résultats de la viabilité et de la phagocytose sont présentés par des histogrammes. Les histogrammes de la viabilité représentent la moyenne et l'écart type en pourcentage des cellules vivantes pour les trois poissons. Tandis que, les histogrammes de la phagocytose représentent l'activité phagocytaire des macrophages. La partie B donne la moyenne et l'écart type en pourcentage des macrophages qui ont phagocyté une bille et plus (capacité phagocytaire). La partie C montre la moyenne et l'écart type en pourcentage des macrophages qui ont phagocyté une bille et plus (l'efficacité phagocytaire).

Les **Figures 24, 25, 26, 27,28 et 29** montrent une très bonne viabilité, il n'y a aucun effet significatif sur la viabilité et l'immunocompétence des cellules malgré qu'il y a une réduction sur la capacité et l'efficacité phagocytaire après une exposition de 24 heures.

Une diminution de la viabilité significative est observée uniquement chez les cellules de truites exposées aux E_{II}TNF₂ après 21 heures et 24 heures (**Figure 26-A et 27-A**) ($p = 0,01$; $p = 0,02$; $p = 0,0003$; $p = 0,0002$). Par contre, il n'y a aucun effet significatif observé pour la capacité et l'efficacité phagocytaire.

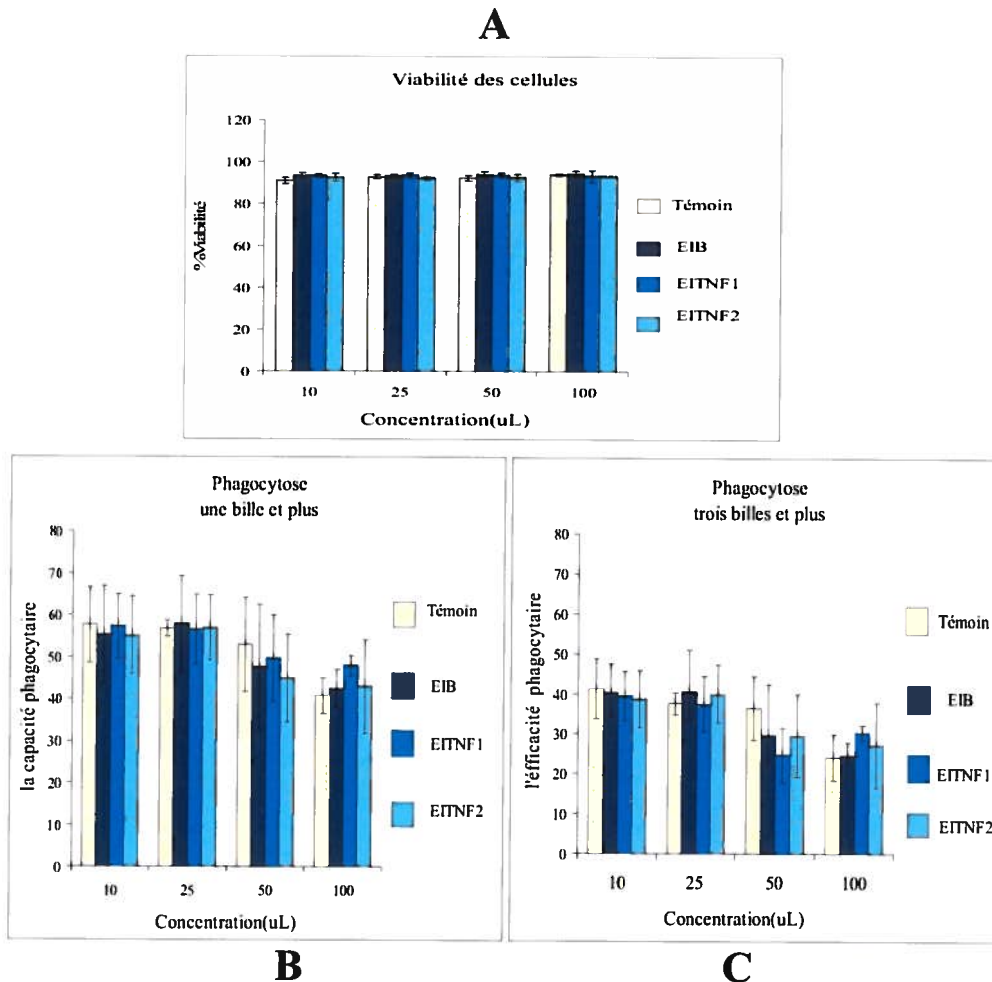


Figure 24: La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de la station d'épuration des eaux usées de Montréal pour 21 heures.

Les figures ci-dessus montrent les résultats obtenus pour la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules des truites exposées aux différentes concentrations du témoin (milieu cellulaire RPM1c) et des effluents de Montréal (E_1B , E_1TNF_1 et E_1TNF_2) pendant 21 heures.

La figure (A) représente le % de la viabilité des cellules en fonction des concentrations (μL) des eaux. Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif.

Les figures (B et C) représentent l'activité phagocytaire des cellules : (B) représente le % des cellules qui ont phagocyté une bille et plus en fonction des concentrations (μL) des eaux (capacité phagocytaire). (C) représente le % des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus en fonction des concentrations (μL) des eaux (efficacité phagocytaire). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

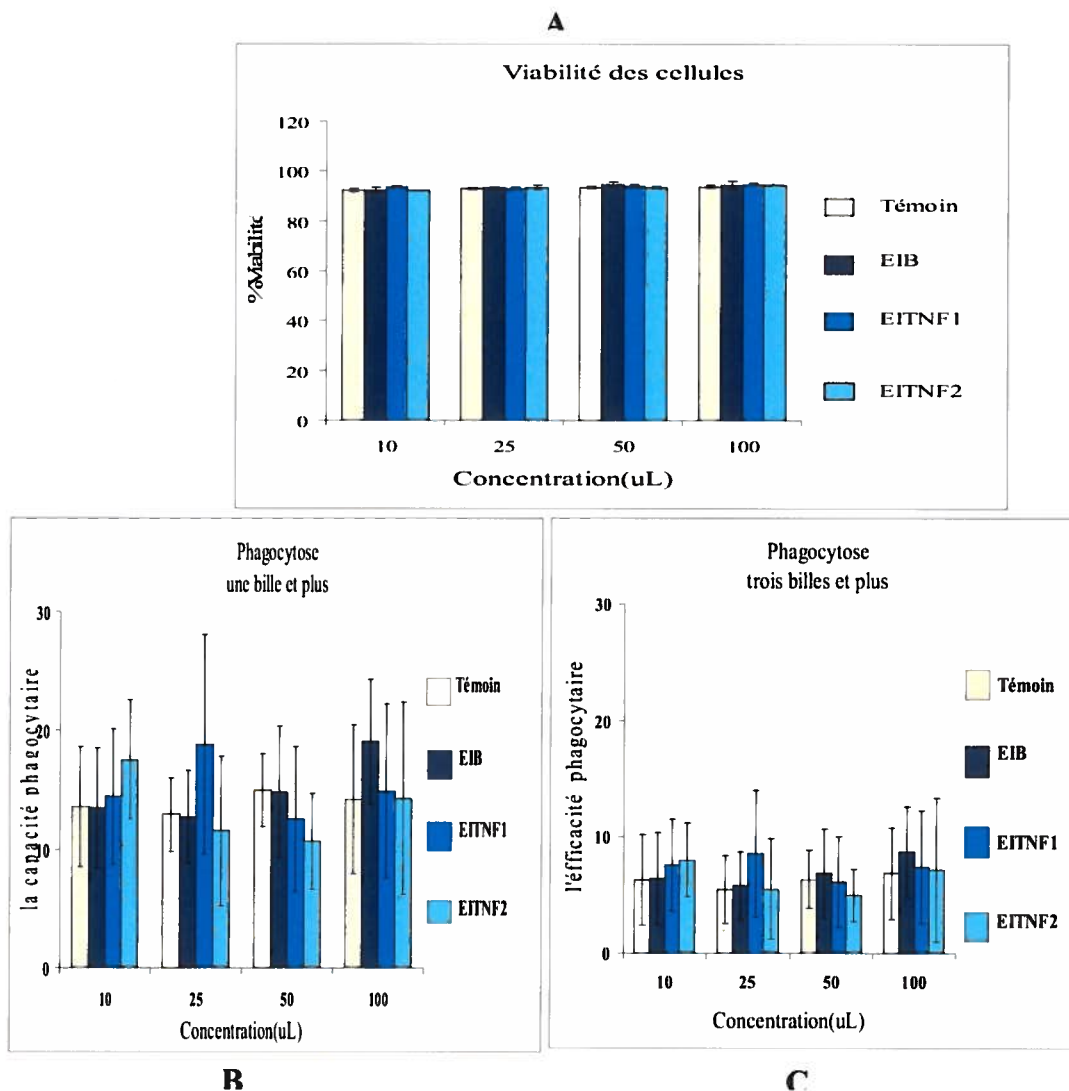


Figure 25: La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de la station d'épuration des eaux usées de Montréal pour 24 heures.

Les figures ci-dessus montrent les résultats obtenus pour la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules de truite exposées aux différentes concentrations du témoin (milieu cellulaire RPM1c) et des effluents de Montréal (E₁B, E₁TNF₁ et E₁TNF₂) pendant 24 heures.

La figure (A) représente le % de la viabilité des cellules en fonction des concentrations (µL) des eaux. Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif.

Les figures (B et C) représentent l'activité phagocytaire des cellules : (B) représente le % des cellules qui ont phagocyté une bille et plus en fonction des concentrations (µL) des eaux (capacité phagocytaire). (C) représente le % des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus en fonction des concentrations (µL) des eaux (efficacité phagocytaire). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

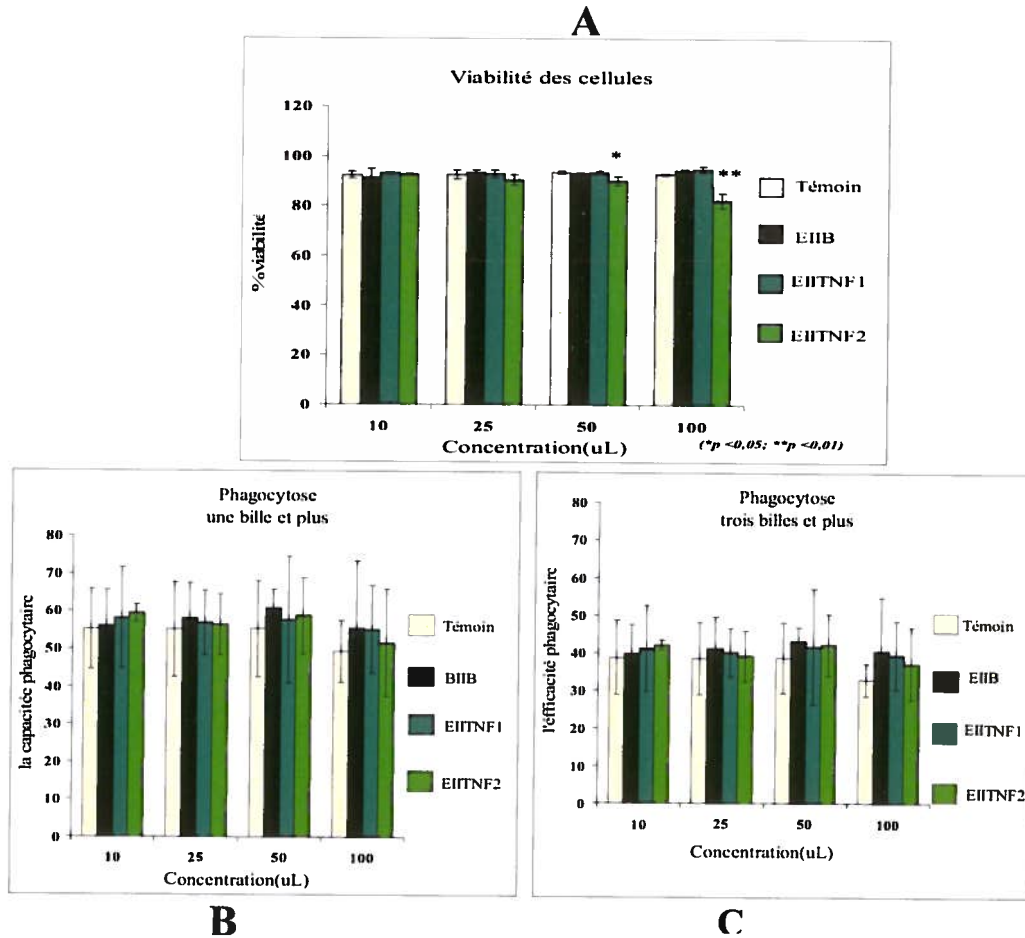


Figure 26: La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de l'UTES Ville de Mercier pour 21 heures

Les figures ci-dessus montrent les résultats obtenus pour la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules des truites exposées aux différentes concentrations du témoin (milieu cellulaire RPMIc) et des effluents de Montréal ($E_{II}B$, $E_{II}TNF_1$ et $E_{II}TNF_2$) pendant 21 heures.

La figure (A) représente le % de la viabilité des cellules en fonction des concentrations (μL) des eaux. Les résultats montrent qu'il y a une diminution significative de la viabilité des cellules exposées aux $E_{II}ETNF_2$ à partir d'une concentration de 50 μL (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.)

Les figures (B et C) représentent l'activité phagocytaire des cellules : (B) représente le % des cellules qui ont phagocyté une bille et plus en fonction des concentrations (μL) des eaux (capacité phagocytaire). (C) représente le % des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus en fonction des concentrations (μL) des eaux (efficacité phagocytaire). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

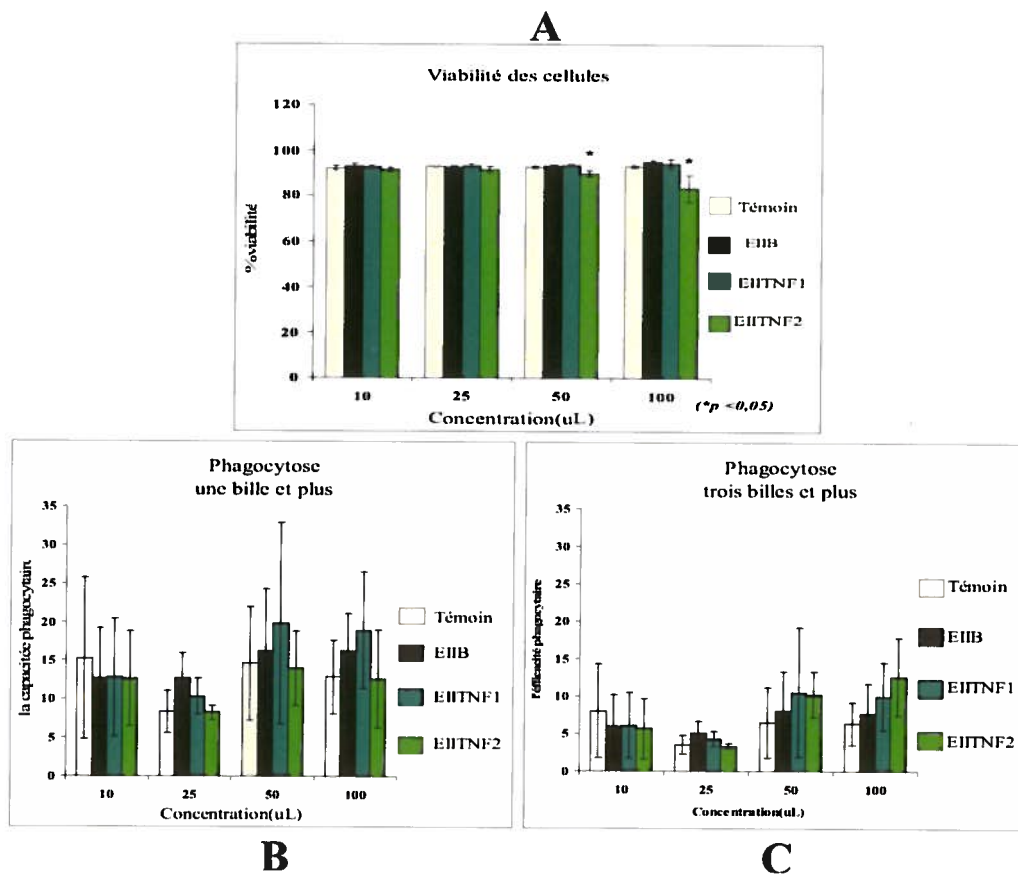


Figure 27: La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux effluents de l'UTES Ville de Mercier pour 24 heures

Les figures ci-dessus montrent les résultats obtenus pour la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules des truites exposées aux différentes concentrations du témoin (milieu cellulaire RPMIc) et des effluents de Montréal ($E_{11}B$, $E_{11}TNF_1$ et $E_{11}TNF_2$) pendant 24 heures.

La figure (A) représente le % de la viabilité des cellules en fonction des concentrations (μL) des eaux. Les résultats montrent qu'il y a une diminution significative de la viabilité des cellules exposées aux $E_{11}TNF_2$ à partir d'une concentration de 50 μL (* $p < 0,05$).

Les figures (B et C) représentent l'activité phagocytaire des cellules : (B) représente le % des cellules qui ont phagocyté une bille et plus en fonction des concentrations (μL) des eaux (capacité phagocytaire). (C) représente le % des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus en fonction des concentrations (μL) des eaux (efficacité phagocytaire). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

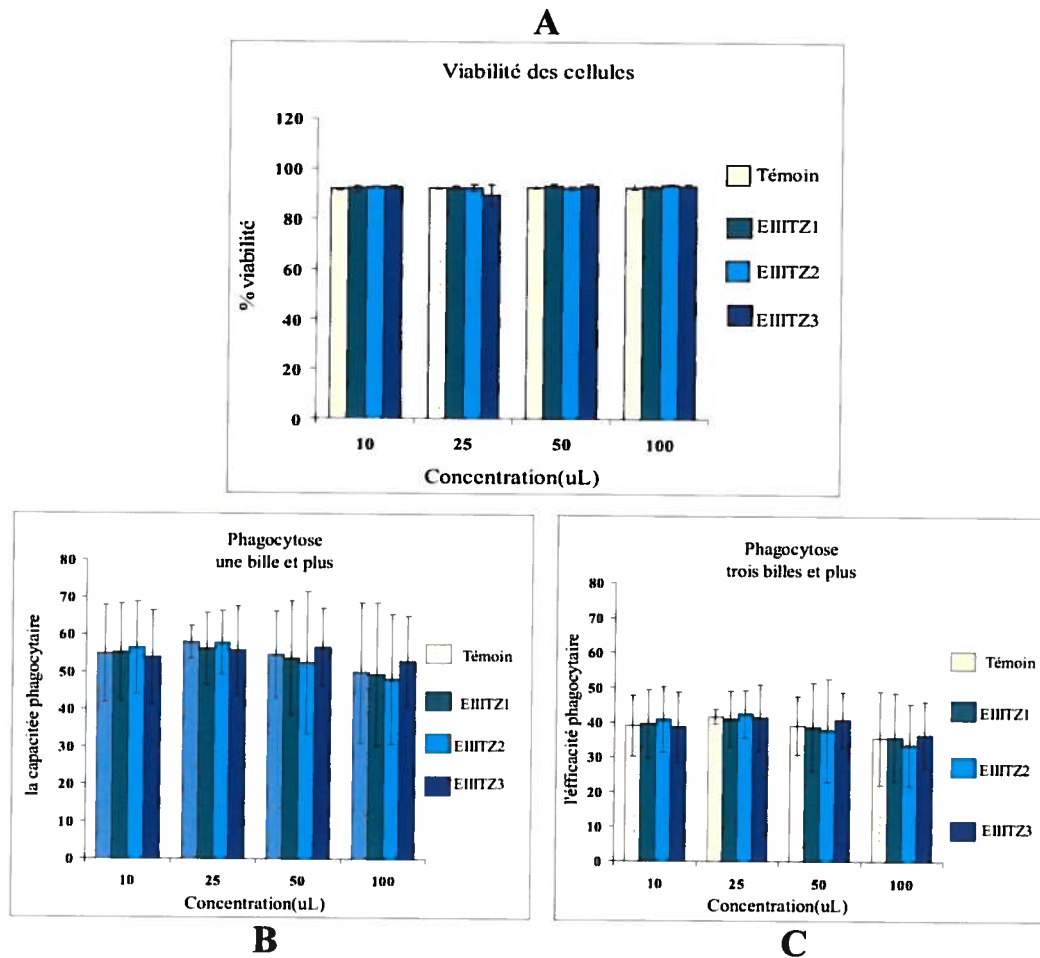


Figure 28: La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux eaux du Technoparc Ville de Montréal pour 21 heures.

Les figures ci-dessus montrent les résultats obtenus pour la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules de truite exposées aux différentes concentrations du témoin (milieu cellulaire RPMIc) et des effluents de Montréal (E_{III}TZ1, E_{III}TZ2 et E_{III}TZ3) pendant 21 heures.

La figure (A) représente le % de la viabilité des cellules en fonction des concentrations (µL) des eaux. Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif.

Les figures (B et C) représentent l'activité phagocytaire des cellules : (B) représente le % des cellules qui ont phagocyté une bille et plus en fonction des concentrations (µL) des eaux (capacité phagocytaire). (C) représente le % des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus en fonction des concentrations (µL) des eaux (efficacité phagocytaire). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

et plus en fonction des concentration (µL) des eaux (C). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

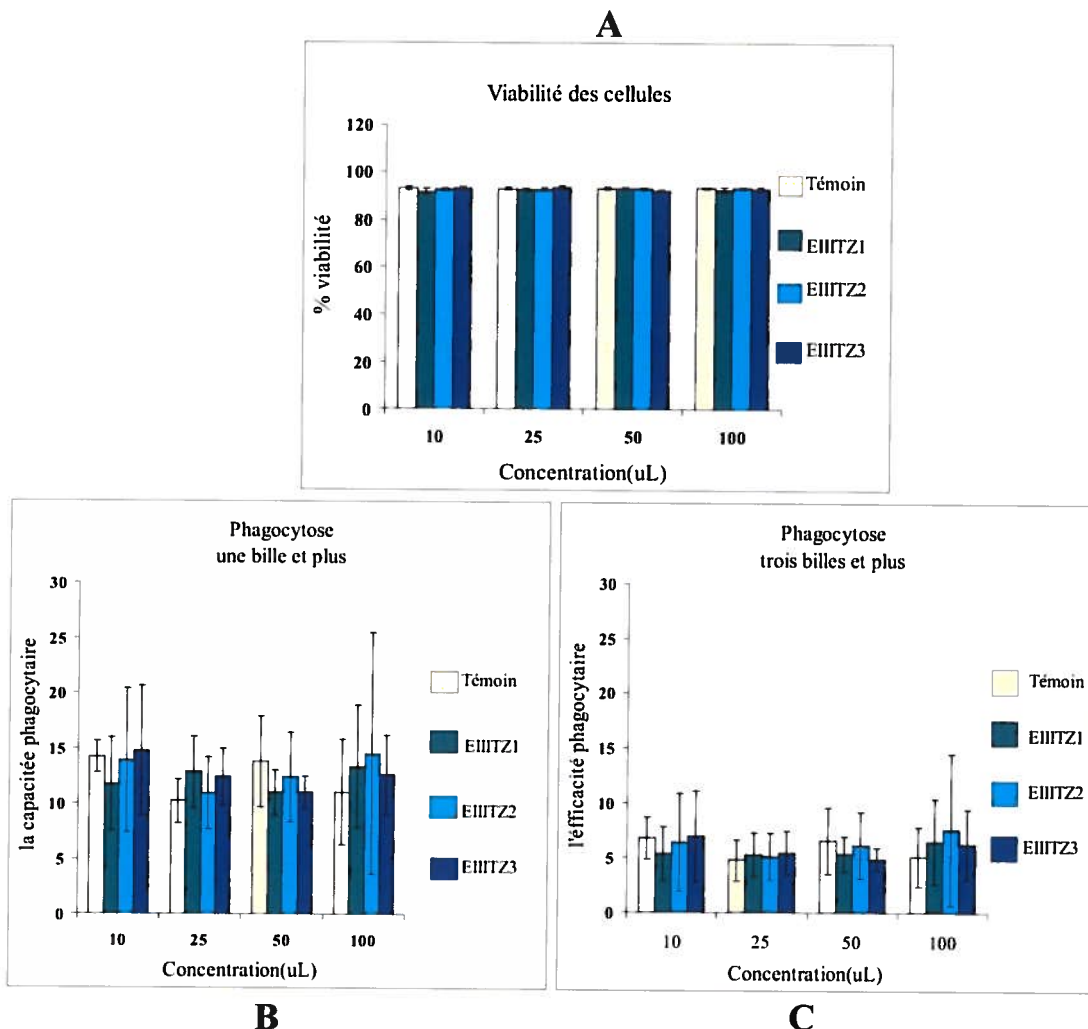


Figure 29 : La viabilité (A) et la phagocytose (B, C) des cellules de truite mouchetée exposées aux eaux du Technoparc Ville de Montréal pour 24 heures.

Les figures ci-dessus montrent les résultats obtenus pour la viabilité et l'activité phagocytaire des cellules de truite exposées aux différentes concentrations du témoin (milieu cellulaire RPMIc) et des effluents de Montréal (E_{III}TZ1, E_{III}TZ2 et E_{III}TZ3) pendant 24 heures.

La figure (A) représente le % de la viabilité des cellules en fonction des concentrations (µL) des eaux. Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif.

Les figures (B et C) représentent l'activité phagocytaire des cellules : (B) représente le % des cellules qui ont phagocyté une bille et plus en fonction des concentrations (µL) des eaux (capacité phagocytaire). (C) représente le % des cellules qui ont phagocyté trois billes et plus en fonction des concentrations (µL) des eaux (efficacité phagocytaire). Les résultats montrent qu'il n'y a aucun effet significatif sur l'activité phagocytaire.

5. DISCUSSION

L'utilisation des tests physicochimiques est nécessaire pour le contrôle de la qualité des eaux usées. En effet, ces tests permettent de connaître et de déterminer la quantité des éléments chimiques toxiques comme l'azote ammoniacal, DCO, COT, les métaux lourds (Hernando et al., 2005). Les tableaux 9, 10 et 11 montrent que les membranes de filtration de la compagnie HAYKA Inc. éliminent complètement les éléments chimiques comme le chlore et l'azote ammoniacal qui font partie de la liste des substances toxiques citées dans la Loi canadienne sur la protection de l'environnement (AMEC Earth & Environmental Limited, 2003). D'autre part, les tests physicochimiques du Technoparc montrent que les procédés membranaires réduisent considérablement les métaux lourds considérés comme des toxiques pour les organismes aquatiques (AngerVille et al., 2008; Isabelle Veltz-Balatre et al., 2000) (**tableau 12**).

Toutes les méthodes toxicologiques d'Environnement Canada recommandent l'emploi d'au moins un toxique de référence. Le toxique de référence est un étalon de précision, il permet de déterminer si le laboratoire peut obtenir des mesures cohérentes et précises et de vérifier le bon fonctionnement du dispositif expérimental. Il permet aussi de déterminer la fiabilité des données obtenues sur la qualité des réactifs biologiques et chimiques et la sensibilité des organismes par rapport à la solution d'essai. Pour les essais répétés avec la même eau de dilution dans le même laboratoire, un taux de coefficient de variation moins de 30% est considéré comme un taux acceptable (Environnement Canada, 1999). Dans notre expérience nous avons utilisé le zinc comme toxique de référence pour le test aigu et chronique. Les coefficients de variation du toxique de référence obtenu par le test de toxicité aiguë avec les bactéries *V. fischeri* ($0,018 \text{ mg/l} \pm 0,003$) et par le test de toxicité chronique avec les algues *P. subcapitata* ($0,0104 \text{ mg/l} \pm 1,8$) sont inférieurs à 30%. Ceci nous permet d'affirmer que nos mesures sont cohérentes et précises et confirme aussi le bon fonctionnement de notre méthode expérimentale.

L'écotoxicité est quantifiée sous la forme d'une concentration en (% volume) de l'échantillon qui induit une inhibition de 50% de la population (algale ou bactérienne). Plus la concentration en (% v/v) qui induit une inhibition de 50% (CI₅₀) est faible plus l'échantillon est toxique.

Pour exprimer la toxicité sous une forme plus facile avec une manière qui soit directement proportionnelle aux effets toxiques, l'Agence américaine de la protection de l'environnement (USEPA) propose l'utilisation de l'unité toxique (UT= 100/CI₅₀) (Sergio et al., 2002). Dans nos travaux, nous avons utilisé cette unité toxique pour chaque effet d'inhibition CI₂₅ et CI₅₀, qui nous permet de distinguer les niveaux de toxicité entre les échantillons.

Durant nos expériences le phénomène de l'hormèse est observé chez les bactéries et les algues. L'hormèse est une stimulation à faible concentration des organismes en expériences par rapport aux organismes des témoins. Ce phénomène est appelé aussi une stimulation à faible dose ce qui provoque l'eutrophisation des lacs (Environnement Canada, 1999).

5.1 Test de toxicité aiguë avec les bactéries *V.fisheri*

La présence ou l'absence d'élément de carbone et d'azote dans le milieu nutritif influence les conditions environnementales (l'oxygène, l'équilibre ionique, le pH et la température) des bactéries de *V. fisheri*. La variation des concentrations en carbone et en azote induit soit une stimulation ou une inhibition de la bioluminescence bactérienne (Scheerer et al 2006). Les résultats montrent que l'exposition des bactéries aux eaux traitées E_ITNF₁ (Tableau14), E_ITNF₂ (Tableau15), E_{II}TNF₁ (Tableau17), E_{II}TNF₂ (Tableau 18), E_{III}TZ₁ (Tableau19H) et E_{III}TZ 2 (Tableau 19I) ne présente aucun effet d'inhibition pour une concentration maximale des échantillons 50% (v/v). Le test ne révélant pas de toxicité, aucune estimation ponctuelle de la CI₂₅ ou CI₅₀ n'est donc nécessaire (Environnement Canada, 1999). Une stimulation de la luminescence est observée pour les eaux traitées de la zone3 du Technoparc E_{III}TZ3 (Tableau 19 J) à une concentration 50 (%v/v). Ceci peut s'expliquer par le fait que les eaux de la zone 3

traitées par les membranes contiennent des quantités favorables de carbone et d'azote. Par ailleurs, certains auteurs considèrent que la stimulation est une conséquence soit, de l'augmentation de flavine mononucléotide réduite (FMNH₂) dans le système de la bioluminescence ou de l'ajout d'arginine ou de ses précurseurs (Miyamoto et al., 2000, Scheerer et al 2006, Vighi et al., 2009,).

Dans le cas des effluents E₁B (**Tableau 13**), les résultats de l'expérience mettent en évidence deux effets. Un effet de stimulation à faible dose est observé pour une concentration 6,25 (%v/v), alors qu'à une concentration 36,7(%v/v) nous avons constaté 25% de perte de la luminescence. Nous pouvons déduire qu'à faibles concentrations de l'échantillon (%v/v), la quantité des éléments (le carbone et l'azote) est conforme aux conditions du milieu bactérien. Mais, en augmentant le volume de l'échantillon (%v/v), la quantité des éléments va augmenter. Ces derniers vont affecter le pH et la balance ionique, ce qui a pour conséquence l'inhibition de la luminescence.

Certaines études ont démontré que sur le plan environnemental, la désinfection des eaux usées au chlore et la présence de l'azote ammoniacal à des concentrations élevées peuvent avoir un impact significatif sur la vie aquatique à cause de leur toxicité, aiguë et chronique. Le chlore réagit avec certaines matières organiques contenues dans les eaux usées pour former des sous-produits organochlorés, dont certains sont potentiellement cancérigènes. L'étude de Wang et ses collaborateurs a montré que la toxicité des échantillons d'eaux usées a augmenté de manière significative après une désinfection au chlore la formation des substances toxiques tels que les trihalométhanes (THM) et les acides haloacétiques (AHA) (Wang et al., 2007). Pardos et ses collaborateurs quant à eux ont trouvé que Dans le cas de l'azote ammoniacal si les concentrations sont élevées dans les échantillons pourrait être responsable de la toxicité (Pardos et al., 1999).

Pour les effluents EIIB de la Ville de Mercier l'inhibition CI50 de la luminescence à été observée pour une concentration 27,17 (%v/v). Cette inhibition est peut être causée par la présence des éléments organiques comme des hydrocarbures aromatiques (HAP), des naphthalènes, des acénaphtylènes, des acénaphènes, des fluorènes et des phénanthrènes (Girotti et al., 2008).

Les résultats obtenus par le laboratoire Bodycote sont complètement différents des nôtres (**Tableau 19**). Aucun effet d'inhibition n'est constaté pour les eaux brutes, par contre, une inhibition de 25% est observée pour les eaux traitées E_{III}TZ1 et E_{III}TZ3 (**Tableau 19 A-B-D-E-J-H**). Ceci est expliqué par plusieurs possibilités telle que la présence de polluant d'une classe chimique non détectable par la méthode d'analyse utilisée et qui auraient résisté au traitement tel que la charge en CO₂ ou en chlore libre dans l'échantillon traité ou une possibilité de contamination des eaux traitées soit pendant le mois de stockage à l'air libre (Lebrun et al., 2007) ou pendant le traitement (Bélanger, 2001). Nous supposons que cette dernière est la plus probable puisque les mêmes échantillons traités E_{III}TZ ont été passés sur un filtre de 0,2 µm ce qui élimine la contamination et explique l'absence d'effet d'inhibition dans nos résultats (**Tableau 19 C-F-I**).

5.2 Test de toxicité chronique avec les algues *P. subcapitata*

Les **Figures 22 et 23** montrent qu'il y a une stimulation significative de la croissance algale pour les eaux E_{III}TZ2 et E_{III}TZ3 du Technoparc à des concentrations maximales (50% v/v ou 100% v/v) de l'échantillon. Ceci signifie que les échantillons ne sont pas toxiques pour les algues, mais ils leur fournissent des nutriments comme l'azote et le phosphore en concentrations favorables pour leur croissance et leur reproduction (Jonsson et al., 2009; Environnement Canada, 1999). Cette stimulation dans ce cas n'est pas nocive pour l'environnement, car ces eaux seront diluées par les eaux réceptrices des rivières.

Par contre, une stimulation significative est constatée à faible dose 6,25 (%v/v) (phénomène de l'hormése) pour les algues exposées aux effluents E_IB (**Figure 17**) et aux E_ITNF1 (**Figure 18**). Dans ce cas, la stimulation est nocive pour l'environnement parce qu'elle va provoquer l'eutrophisation des eaux douces.

Le phénomène de l'hormése (stimulation à faible dose) est observé aussi pour les effluents de l'UTES E_{II}B (**Figure 19**) et les eaux traitées E_{II}TNF₁ avec ajustement du pH (**Figure 20**). Par contre, des inhibitions CI₅₀ sont observées à des concentrations de 65,5 (%v/v) pour les eaux E_{II}B (**Tableau 23**), de 39 (%v/v) pour les eaux traitées E_{II}TNF₁

sans ajustement du pH (**Tableau 24A**) et de 73 (%v/v) pour les eaux traitées $E_{II}TNF_2$ (**Tableau 25**).

L'inhibition peut être expliquée par la présence des éléments toxiques organiques et inorganiques comme l'azote ammoniacal ou les composés de soufre réduit, les polychlorobiphényles, les hydrocarbures aromatiques et les métaux lourds (cadmium, cuivre, plomb, zinc) (AngerVille et al., 2008; Källqvist et al., 2008), par des valeurs du pH qui sont inférieures à 6,5 ou supérieures à 8,5 ou encore par l'élimination excessive des éléments nutritifs par la membrane de nanofiltration 2.

Les résultats obtenus pour les eaux du Technoparc par notre laboratoire sont différents de ceux de laboratoire Bodycote malgré que leurs tests physicochimiques confirment l'amélioration de la qualité des eaux traitées par le procédé membranaire. Les résultats des tests de Bodycote, sont obtenus à partir des méthodes accréditées par le Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Alors que, nos résultats découlent de la méthode standard de l'Environnement Canada.

Les différences de sensibilité observées entre les deux méthodes sont principalement attribuables à la présence ou l'absence d'EDTA dans le milieu nutritif. Toutefois, d'autres caractéristiques méthodologiques semblent également exercer une influence telle que la configuration en microplaque et la présence ou l'absence d'agitation. Les deux méthodes ne sont pas équivalentes pour les substances inorganiques mais elles produisent des résultats beaucoup plus similaires avec les substances organiques (Christian Bastien et al.). De plus, La possibilité de contamination des eaux traitée pendant 1 mois de stockage à l'air libre (Lebrun et al., 2007) ou pendant le traitement (Bélanger, 2001) peut influencer les résultats.

5.3 Tests immunologiques

La phagocytose chez les poissons est la première ligne de défense contre les pathogènes. Elle est souvent considérée comme un biomarqueur immunologique sensible aux contaminants de l'environnement (Salo et al., 2007).

Les résultats de notre expérience sur l'exposition des cellules de pronéphros des truites aux effluents durant 21 h et 24h à 15°C n'ont donné aucun effet sur la viabilité, la capacité et l'efficacité phagocytaire. Par contre, nous avons constaté une diminution significative de la viabilité cellulaire à partir d'une concentration de 50µL de l'échantillon (**Figure 26A et 27A**). Cette diminution est observée uniquement pour les cellules exposées pendant 21h et 24h aux effluents de l'UTES traités par la nanofiltration 2. Ceci pourrait être expliqué par l'élimination des éléments nutritifs indispensables à la survie des cellules, ou par l'élimination des substances dissoutes, essentielles à l'équilibre osmotique entre la cellule et son milieu.

6. CONCLUSION

Les essais de toxicité ont une grande sensibilité et capacité pour détecter les perturbateurs de l'environnement et distinguer les différents degrés de toxicité. L'utilisation combinée des tests de toxicité et des tests chimiques sont nécessaires dans le contrôle de la qualité des eaux usées. Avec cette combinaison nous pouvons évaluer la complémentarité et la corrélation entre les données chimiques et la toxicité. L'application des toxiques de référence et l'utilisation des coefficients de variation dans les tests de l'écotoxicité permettent de valider les résultats des expériences

Nous avons constaté que la plus part des effluents traités par le procédé membranaire n'ont pas d'effet d'inhibition sur les indicateurs biologiques. Par contre, un effet de stimulation sur certains organismes est observé dans le cas des algues. Cette stimulation est sans conséquences quand elle apparait à des concentrations maximales de l'effluent (50%v/v ou 100%v/v). Par contre, elle est nocive dans les cas ou elle apparait à de faible concentration de l'effluent (%v/v) car cela peut provoquer une eutrophisation des lacs. En outre, nous avons constaté que l'inhibition peut être causée par une filtration excessive comme dans le cas de la nanofiltration 2 qui élimine les éléments nutritifs indispensables à la viabilité de certains organismes.

Finalement, l'ensemble des évaluations démontre que les traitements ont été très efficaces, car ils ont réduit de manière considérable la toxicité des échantillons. Néanmoins, un ajustement des membranes de filtration peut être apporté pour certains types d'eau. Le choix de la membrane et des modules est conditionné par une connaissance approfondie du fluide à traiter et en particulier le type d'éléments présents et de leur concentration. Ces données seront utiles pour le développement des procédés membranaires en vue d'améliorer la qualité de l'environnement.

7. PERSPECTIVES

Nous avons constaté que les eaux de Technoparc traitées par un procédé membranaire de la figure 10 n'ont présenté aucune inhibition ni stimulation nocive et leur qualité respecte les normes environnementales.

Comme perspective, nous suggérons de refaire le même procédé de traitement membranaire avec les deux bancs d'essais conçus pour le projet Technoparc pour les souterraines de la Ville de Mercier et les effluents de la station d'épuration des eaux usées de la Ville de Montréal et de procéder à des tests physicochimiques, écotoxicologiques et immunologique afin d'évaluer la qualité du traitement.

RÉFÉRENCES

- Abouzaid A, Mouzdah A, Rumeau (2003) Étude de la rétention des sels monovalents et bivalents par nanofiltration. *Comptes Rendus Chimie*, **6**, 431-436.
- Angerville R, Emmanuel E, Perrodin Y (2008) Toxicity of binary mixtures of heavy metals against the freshwater algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Toxicology Letters*, **180**, S178-S178.
- Asmussen R.M., Tian M, Chen A (2009) A New Approach to Wastewater Remediation Based on Bifunctional Electrodes *Environ. Sci. Technol*, **43**, 5100–5105.
- Balaise C, Paule V (2005) Algal microplate toxicity test. In: *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations* (ed. by Balaise C, Féraud J-F). Springer, Canada, pp. 137-179.
- Bastien C, Cardin R, Pâquet A, Lemire R. ÉTUDE COMPARATIVE DES PROTOCOLES DU CEAEQ ET D'ENVIRONNEMENT CANADA POUR LE TEST D'INHIBITION DE LA CROISSANCE AVEC L'ALGUE SELENASTRUM CAPRICORNUTUM (*Pseudokirshneriella subcapitata*). Quebec.
- Bandini S and Bruni L (2010) Transport Phenomena in Nanofiltration Membranes. In: *Fundamentals of Cross-Flow Microfiltration* (ed. by Drioli E, Giorno L). Elsevier, Italy, pp. 67-88.
- Beaudet R (1999) Les eaux souterraines. BUREAU D'AUDIENCES PUBLIQUES SUR L'ENVIRONNEMENT, quebec, pp. 36.
- Bélanger J (2001) Contamination Bactériologique des perméats de nanofiltration. In: *génie civil*. Laval, Québec, pp. 168.
- Berland J-M, Juery C (2002) Les procédés membranaires pour le traitement de l'eau, Office International de l'Eau SNIDE, France, pp. 71.
- Bouchard C, Kouadio P, Ellis D, Rahni M, Lebrun R (2000) Les procédés membranaires et leurs applications en production d'eau potable. *Vecteur environnement* **33**, 28-38.

- Boussahel R, Baudu M, Montiel A (2002) influence de la matière organique et inorganique de l'eau sur l'élimination des pesticides par nanofiltration. *des sciences de l'eau* **15**, 709-702.
- Brousseau P (1999) Manual of Immunological Methods. Florida, USA, pp. 141
- Brousseau P, Pellerin J, Morin Y, Cyr D, Blakley B, Boermans H, Fournier M (1999) Flow cytometry as a tool to monitor the disturbance of phagocytosis in the clam *Mya arenaria* hemocytes following in vitro exposure to heavy metals. *Toxicology*, **142**, 145-156.
- Bureau d'audiences publiques sur l'environnement (1994) Restauration du milieu contaminé de mercier, québec, pp. 222.
- Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2007) Méthode d'analyse , Détermination de la toxicité : inhibition de la croissance chez l'algue *Pseudokirchneriella subcapitata*. (ed Québec Cdeaeed). MA. 500 - P.sub 1.0 Québec.
- Codina R (2007) Le gouvernement a une solution pour les lagunes souillées de Mercier. *LA VIE RURALE*, Montérégie.
- Corbeil S (1991) RÉPONSE IMMUNITAIRE HUMORALE INDUITE PAR LE VIRUS DE LA NÉCROSE PANCRÉATIQUE INFECTIEUSE (VNPI) CHEZ LA TRUITE MOUCHETÉ (*SALVELINUS FONTINALIS*). ET CARACTERISATION DE L'IMMUNOGLOBULINE PRODUITE. UNIVERSITÉ DU QUÉBEC, Québec, pp. 119.
- Communiqué de presse (2007) LAGUNES DE MERCIER QUÉBEC ANNONCE UN PLAN D'ACTION. Développement durable, Environnement et Parc, quebec, pp. 1-3.
- Communiqué de presse (2009) LAGUNES DE MERCIER : QUÉBEC LANCE LA PROCÉDURE D'APPEL D'OFFRES POUR LA MODERNISATION DE L'USINE DE TRAITEMENT DES EAUX SOUTERRAINES. Développement durable, Environnement et Parc. Quebec, pp. 30.
- Courousse F (2006) Le bioréacteur à membranes. pp. 17.

- De Montgolfier B, Fournier M, Audet C, Marcogliese DJ, Cyr DG (2008) Influence of municipal effluents on the expression of connexins in the brook trout (*Salvelinus fontinalis*) testis. *Aquatic Toxicology*, **86**, 38-48.
- Djouder H (2007) Etude morphologique de bleu dextran et polyphénylène oxyde sulfonique (SPPO). Canada, pp. 27.
- Environnement Canada (1992) Méthode d'essai biologique, essai de toxicité sur la bactérie luminescente. SPE 1/RM /24, Canada, pp. 1-59.
- Environnement Canada (1996) MÉTHODE D'ESSAI DE TOXICITÉ AIGUË AVEC VIBRIO FISCHERI RÉALISÉE EN MICROPLAQUE, Méthode pour échantillons aqueux. CPQ409E0, Québec, pp. 16.
- Environnement Canada (1999) Guide des essais éco toxicologiques employant une seule espèce et de l'interprétation de leurs résultats, Rapport SPE 1/RM/34, , Ontario, pp. 209.
- Canada E (2005) Document d'orientation sur les méthodes statistique applicables aux essais d'écotoxicité. (ed environnementale Cdt). Rapport SPE 1/RM/46-2005 Ontario, pp. 304.
- Environnement Canada (2007) Méthode d'essai biologique: Essai d'inhibition de la croissance d'une algue d'eau douce. SPE 1/RM/25 deuxième édition, Ottawa, pp. 1-56.
- Environnement Canada (2009) Qualité de l'eau : Perspective nationale, Canada.
- Férard J-F, Ferrari B (2005) Wastoxhs: a bioanalytical strategy for solid wastes assesment. In: *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations* (ed. by Balaise C, Férard J-F). Springer, Canada, pp. 331-375.
- Field R (2010) Fundamentals of Cross-Flow Microfiltration. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment* (ed. by Drioli E, Giorno L). Elsevier, Italy, pp. 141-153.
- G Wen JM, L Zhang, and G Yu, (2010) Membrane Bioreactor in Water Treatment. In: *Comprehensive membrane science and engineering* (ed. by Drioli Enrico, Giorno Lidietta). Elsevier, Italy, pp. 195-209.
- Garrity GM, j. Bernner D, Krieg Nr, Staley JT (2005) Systematic Bacteriology. USA, pp. 491-502.

- Giesy JP, Jones PD, Kannan K, Newsted JL, Tillitt DE, Williams LL (2002) Effects of chronic dietary exposure to environmentally relevant concentrations to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on survival, growth, reproduction and biochemical responses of female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, **59**, 35-53.
- GILBIN R (2001) Caractérisation de l'exposition des écosystèmes aquatiques à des produits phytosanitaires : spéciation, biodisponibilité et toxicité. Exemple du cuivre dans les eaux de ruissellement de parcelles viticoles (Roujan, Hérault, France). In: *Section des sciences de la Terre*. l'Université de Genève, Suisse, pp. 192.
- Giorno L, Drioli E (2010) Basic Aspects in Polymeric Membrane Preparation. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment*. Elsevier, Italy, pp. 91-110.
- Girard M (1996) Traitement des effluents de l'industrie du désencrage par procédés membranaires. Laval, Québec, pp. 1-4.
- Girotti S, Ferri E.N, Fumo M.G, Maiolini EI (2008) Monitoring of environmental pollutants by bioluminescent bacteria. *Analytica Chimica Acta*, **608**, 2-29.
- Grégoroi C, Pierre-Marie B (2007) Traitement et épuration des eaux industrielles polluées. pp. 18- 46.
- Hansen JA, Welsh PG, Lipton J, Suedkamp MJ (2002) The effects of long-term cadmium exposure on the growth and survival of juvenile bull trout (*Salvelinus confluentus*). *Aquatic Toxicology*, **58**, 165-174.
- Hernandez Rojas M- E (2006) Bioréacteur à membrane immergées pour le traitement d'eaux usées domestiques: influence des conditions biologiques sur les performances du procédé L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE École, France, pp. 210.
- Hernando MD, Fernández-Alba AR, Tauler R, Barceló D (2005) Toxicity assays applied to wastewater treatment. *Talanta*, **65**, 358-366.
- Hernando MDM, O.; Farré, M.; Fernandez-Alba, A. ; , R.Barceló D (2006) Application of ring study: Water toxicity determinations by bioluminescence assay with *Vibrio fischeri*. *Talanta*, **69**, 370-376.

- Hilal N, Johnson D (2010) The Use of Atomic Force Microscopy in Membrane Characterization. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment* (ed. by Drioli E, Giorno L). Elsevier, Italy, pp. 338-352.
- Hsieh CY, Tsai MH, Ryan DK, Pancorbo OC (2004) Toxicity of the 13 priority pollutant metals to *Vibrio fisheri* in the Microtox® chronic toxicity test. *Science of The Total Environment*, **320**, 37-50.
- Johnson B (2005) Microtox acute toxicity test. In: *Small-scale Freshwater Toxicity Investigations* (ed. by Balaise C, Férard J-F). Springer, Canada, pp. 69-105.
- Jonsson CM, Aoyama H (2009) Effect of copper on the activation of the acid phosphatase from the green algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *BioMetals*, 1-6.
- Kurihara M, Tomioka H (2010) Preparation of Industrial RO, NF Membranes, and Their Membrane Modules and Applications. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment* (ed. by Drioli E, Giorno L). Elsevier, Italy, pp. 23-32.
- Lebrun R, Jedrejack S, Noël I, Ortéga L, H D (2007) Sélection de technologies de traitement des eaux souterraines du secteur situé entre les ponts Champlain et Victoria, en bordure du fleuve. HAYKA Inc., Québec, pp. 71.
- Lee J, Park JH, Shin YS, Lee BC, Chang NI, Cho J, Kim SD (2009) Effect of dissolved organic matter on the growth of algae, *Pseudokirchneriella subcapitata*, in Korean lakes: The importance of complexation reactions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**, 335-343.
- Lee PY, Chen CY (2009) Toxicity and quantitative structure-activity relationships of benzoic acids to *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Journal of Hazardous Materials*, **165**, 156-161.
- Lien GJ, McKim JM, Hoffman AD, Jenson CT (2001) A physiologically based toxicokinetic model for lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquatic Toxicology*, **51**, 335-350.
- Limited AEE (2003) Gestion des déchets des usines de transformation des produits de la mer de l'Atlantique. Équipe régionale de l'Atlantique – Programme d'action national. Gestion des déchets des usines de transformation des produits de la mer de l'Atlantique Nouvelle-Écosse, pp. 104.

- Lutz H (2010) Ultrafiltration: Fundamentals and Engineering. In: *Comprehensive membrane science and engineering* (ed. by Drioli E, Giorno L). Elsevier, Italy, pp. 115-138.
- Maloney F (2007) Influence de paramètres physico-chimiques (dureté, pH et présence d'un agent chélateur, l'EDTA) sur la réponse toxique au cadmium de l'algue verte d'eau douce *Pseudokirchneriella subcapitata*. In: *INRS-Eau, Terre et Environnement*. Université du Québec, Québec, pp. 138.
- Maurel A (1993) Membrane separation. Reverse osmosis, nanofiltration, ultrafiltration, crossflow microfiltration. Theoretical study. *Techniques de l'Ingénieur*, **3**, 1-24.
- Microniology (2005) illuminating genes in vibrio. *PNAS*, **102**, 2673-2674.
- Miyamoto C.M, Lin Y, Meighen E.A (2000) Control of bioluminescence in *Vibrio fischeri* by the LuxO signal response regulator. *Molecular Microbiology*, **36**.
- Nagarale RK, Gohil GS, K. SV (2006) Recent developments on ion-exchange membranes and electro-membrane processes. *Advances in Colloid and Interface Science* **119**, 97 - 130.
- Noel M-N, Lebrun R, Bouchard C, (2000) Electro-nanofiltration of a textile direct dye solution *Deslination* . , **129**, 125- 136.
- Pardos M, Benninghoff C, Gueï guen C, Thomas R, Dobrowolski J, Dominik J (1999) Acute toxicity assessment of Polish (waste)water with a microplate-based *Hydra attenuata* assay: a comparison with the Microtox® test. *Science of The Total Environment*, **243-244**, 141-148.
- Pavlic Z, Vidakovic-Cifrek Z, Puntaric D (2005) Toxicity of surfactants to green microalgae *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Scenedesmus subspicatus* and to marine diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Skeletonema costatum*. *Chemosphere*, **61**, 1061-1068.
- Peeva L G, Sairam M, Livingston A G (2010) Nanofiltration Operations in Nonaqueous Systems. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment* (ed. by Drioli E, Giorno L), Italy, pp. 91-109.
- Poëy J, Philibert C Toxicité des métaux. *Revue Française des Laboratoires*, **2000**, 35-43.

- Purenne P (2007) Rapport annuel 2007 _ Analyse de la qualité des eaux brutes et de l'eau traitée à la Station d'épuration et évaluation du rendement des installations (ed d'épuration S), Montréal, Québec pp. 1-59.
- Rand GM, Petrocelli SR (1985) Fundamentals of Aquatic Toxicology. Washington, USA, pp. 31- 57.
- Réseau environnement(2009) Mémoire sur le Projet portant sur l'exploitation d'une cellule d'enfouissement de sols contaminés à Mascouche. Bureau d'Audiences Publiques sur l'Environnement, québec.
- Robert E (2009) Lagunes de Mercier: L'appel d'offres pour moderniser l'usine de traitement des eaux souterraines est lancé. In: *LA VIE RURALE, QUÉBEC*.
- Rüdiger A, Matthée T, Waldmann K, Tonnoir J (2003) Épuration avancée d'eaux résiduares industrielles par oxydation électrochimique à l'aide d'électrodes de diamant. *L'EAU, L'INDUSTRIE, LES NUISANCES* - 266, 117-121.
- Salizzato M, Pavoni B, Volpi Ghirardini A, Ghatti PF (1998) Sediment toxicity measured using *Vibrio fischeri* as related to the concentrations of organic (PCBs, PAHs) and inorganic (metals, sulphur) pollutants. *Chemosphere*, 36, 2949-2968.
- Salo HM, Hébert N, Dautremepuits C, Cejka P, Cyr DG, Fournier M (2007) Effects of Montreal municipal sewage effluents on immune responses of juvenile female rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic Toxicology*, 84, 406-414.
- SANTIAGO S, BECKER van S. K, CHÈVRE N , PARDOS M , BENNINGHOFF C , DUMAS M , THYBAUD E, GARRIVIER F (2002) Guide pour l'utilisation des tests écotoxicologiques avec les daphnies, les bactéries luminescentes et les algues vertes, appliqués aux échantillons de l'environnement. Université de Genève., Suisse, pp. 56.
- Scheerer S, Gomez F, Lloyd D (2006) Bioluminescence of *Vibrio fischeri* in continuous culture: Optimal conditions for stability and intensity of photoemission. *Journal of Microbiological Methods*, 67, 321-329.
- Schrotter J-C, Rapenne S, Leparc J, Remize P-J, Casas S (2010) Current and Emerging Developments in Desalinationwith Reverse Osmosis Membrane Systems. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment* (ed. by Drioli E, Giorno L). Elsevier, Italy, pp. 36-62.

- Smits JE, Williams TD (1999) Validation of immunotoxicology techniques in passerine chicks exposed to oil sands tailings water. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **44**, 105-112.
- Technologies du développement durable Canada (2008) Le Gouvernement du Canada apporte son soutien à 19 projets de technologie propre, Technologies du développement durable Canada approuve un nouveau financement de 57 millions \$ (ed Canada Tddd), Ontario.
- Torsten K, Radmila M, Tvrtko S, Kevin V. T, Sanja V, Knut-ErikT (2008) Chronic toxicity of the Sava River (SE Europe) sediments and river water to the algae *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Water Research*, **42**, 2146-2156.
- Veltz-Balatre I, Biagianti-Risbourg S, Verne G (2000) De la régénération céphalique de l'Oligochitte *Lumbriculus variegatus* Müller à l'étude de la toxicité des métaux lourds. *L'année Biologique* **39**, 39-52.
- Vighi M, Migliorati S, Monti GS (2009) Toxicity on the luminescent bacterium *Vibrio fischeri* (Beijerinck). I: QSAR equation for narcotics and polar narcotics. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **72**, 154-161.
- Wang L-S, Wei D-B, Wei JH, Hong-Ying (2007) Screening and estimating of toxicity formation with photobacterium bioassay during chlorine disinfection of wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, **141**, 289-294.
- Xu Y, Lebrun RE, Gallo PJ, Blond P (1999) Treatment of textile dye plant effluent by nanofiltration membrane. *Separation Science and Technology*, **34**, 2501-2519.
- Yamamoto, Lebrun, Cheyiran, Drioli, Rautenbach, Strathman, Loeb (2010) Absolute Solution for Waste Water: Dynamic Nano Channels Processes. In: *Membrane Bioreactor in Water Treatment* (ed. by Drioli E, L G).
- YOCKA RE, Boudjedaimi N, Lebrun R, Djouder H (2009) Détermination de la toxicité chronique des eaux traitées par la toxicité chronique avec les algues *Pseudokirchneriella subcapitata*. Hayka Inc, Québec, pp. 24.